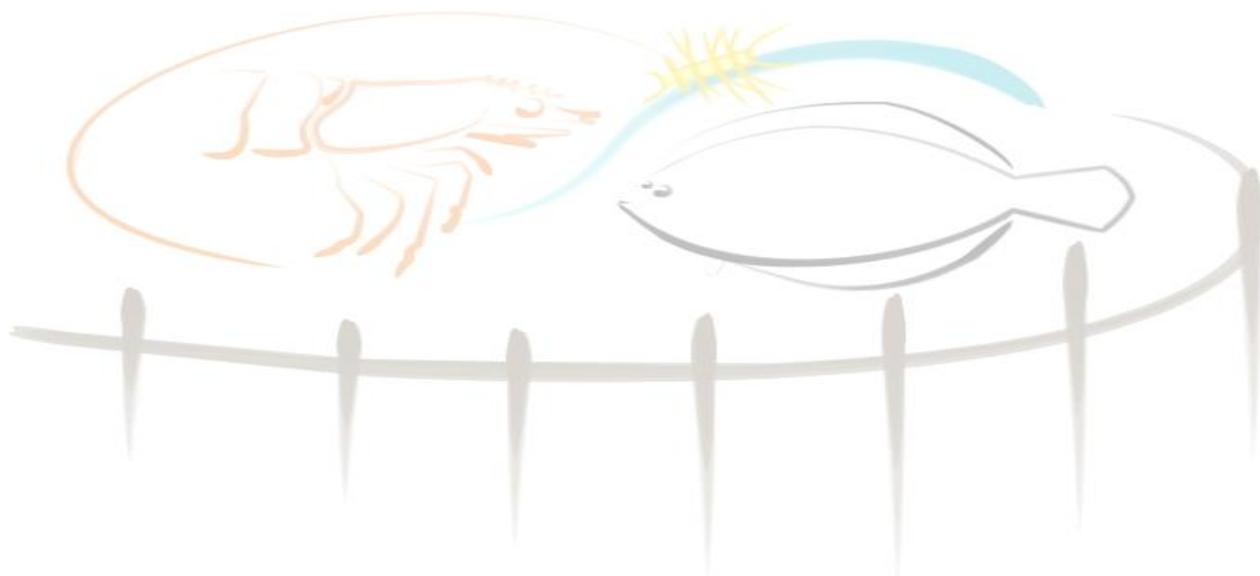


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**EFEITO DO TAMANHO DE AGREGADO MICROBIANO NO PROCESSO DE
NITRIFICAÇÃO DURANTE A PRODUÇÃO DO CAMARÃO BRANCO
LITOPENAEUS VANNAMEI EM SISTEMA DE BIOFLOCOS (BIOFLOC
TECHNOLOGY - BFT).**

JANAÍNA DE SOUZA SOUZA

RIO GRANDE, RS
MARÇO, 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**EFEITO DO TAMANHO DE AGREGADO MICROBIANO NO PROCESSO DE
NITRIFICAÇÃO DURANTE A PRODUÇÃO DO CAMARÃO BRANCO
LITOPENAEUS VANNAMEI EM SISTEMA DE BIOFLOCOS (BIOFLOC
TECHNOLOGY - BFT).**

JANAÍNA DE SOUZA SOUZA

Orientador: Prof. Dr. Paulo César Abreu

Co-orientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura no Programa de Pós graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Rio Grande.

RIO GRANDE, RS
MARÇO, 2017

ATA DE APROVAÇÃO

ÍNDICE

RESUMO GERAL	IX
GENERAL ABSTRACT	X
INTRODUÇÃO GERAL	11
OBJETIVO GERAL	14
Objetivos específicos	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
Capítulo 1	17
RESUMO	18
ABSTRACT	19
1. INTRODUÇÃO	20
2. MATERIAIS E MÉTODOS	21
2.1. Local e instalações	21
2.2. Desenho Experimental	23
2.2.1. Experimento 1:	23
2.2.2. Experimento 2:	23
2.2.3. Experimento 3:	24
2.3. Parâmetros físicos e químicos	24
2.4. Nitrogenados	24
2.5. Sólidos suspensos totais	25
2.6. Medições do biofoco	25
2.7. Microrganismos	25
2.8. Desempenho zootécnico dos camarões	25
2.9. Análises estatísticas	26
3. RESULTADOS	26
3.1. Experimento 1	26
3.2. Experimento 2:	33
3.3. Experimento 3	39
3.2.1. Microrganismos	45
4. DISCUSSÃO	47
5. CONCLUSÃO	55
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fontes dos inóculos de Bioflocos oriundos da produção do camarão branco *L. vannamei* da Estação Marinha de Aquicultura – EMA. 22

Tabela 2: Parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões *L. vannamei* durante o experimento. Os dados são correspondentes a média de 3 repetições ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente ($p < 0,05$). 32

Tabela 3: Parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões *L. vannamei* durante o experimento. Os dados são correspondentes a média de 3 repetições ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente ($p < 0,05$). 39

Tabela 4: Parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões *L. vannamei* durante o experimento. Os dados são correspondentes a média de 3 repetições ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente ($p < 0,05$). 44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de sistema para separação de partículas de diferentes tamanhos. ... 22

Figura 2: Unidades experimentais mostrando os sistemas de separação de partículas. . 23

Figura 3: Salinidade nos tratamentos 50µm, 150 µm, 300 µm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios ± desvio padrão para três repetições..... 27

Figura 4: Valor médio diário de Temperatura (°C) nos tratamentos 50µm, 150 µm, 300 µm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios ± desvio padrão para três repetições. 27

Figura 5: Valor médio diário de Oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) nos tratamentos 50µm, 150 µm, 300 µm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios ± desvio padrão para três repetições. 28

Figura 6: pH (A) e Alcalinidade (mg L^{-1}) (B) nos tratamentos 50 μm , 150 μm , 300 μm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.....	29
Figura 7: Concentrações de sólidos suspensos totais (mg L^{-1}) nos tratamentos 50 μm , 150 μm , 300 μm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	30
Figura 8: Tamanho dos Bioflocos (μm) nos tratamentos 50 μm , 150 μm , 300 μm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	30
Figura 9: Compostos nitrogenados (mg L^{-1}): concentrações de amônia (A), nitrito (B) e nitrato (C) nos tratamentos 50 μm , 150 μm , 300 μm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.....	32
Figura 10: Salinidade nos tratamentos 300 μm , 600 μm e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.....	33
Figura 11: Valor médio diário de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) nos tratamentos 300 μm , 600 μm e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.....	34
Figura 12: Valor médio diário de Oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) nos tratamentos 300 μm , 600 e S.F, μm durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	34
Figura 13: pH (A) e Alcalinidade (mg L^{-1}) (B) nos tratamentos 300 μm , 600 μm e S.F., durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	35
Figura 14: Concentrações de sólidos suspensos totais (mg L^{-1}) nos tratamentos 300 μm , 600 μm e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	36
Figura 15: Tamanho dos Bioflocos (μm) nos tratamentos 300 μm , 600 μm e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	36
Figura 16: Compostos nitrogenados (mg L^{-1}): concentrações de amônia (A), nitrito (B) e nitrato (C) nos tratamentos 300 μm , 600 μm e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.....	38
Figura 17: Salinidade nos tratamentos 150 μm , F.Parcial e S.F, e durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.....	39
Figura 18: Valor médio diário de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) nos tratamentos 150 μm , F.Parcial e S.F, e durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.....	40

Figura 19: Valor médio diário de oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) nos tratamentos 150 μm , F.Parcial e S.F, durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	40
Figura 20: pH (A) e Alcalinidade (mg L^{-1}) (B) nos tratamentos 150 μm , F.Parcial e S.F, durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	41
Figura 21: Concentrações de sólidos suspensos totais (mg L^{-1}) nos tratamentos 150 μm , F.Parcial e S.F, e durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	42
Figura 22: Tamanho dos bioflocos (μm) nos tratamentos 150 μm , F.Parcial e S.F, durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	42
Figura 23: Compostos nitrogenados (mg L^{-1}): concentrações de amônia (A), nitrito (B) e nitrato (C) nos tratamentos 150 μm , F.parcial e S.F., durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.	44
Figura 24: Bactérias Bacilos (A) e Colônias cocóides livres (B) no tratamento S.F., durante 34 dias de experimento.	46
Figura 25: Colônias aderidas na matéria orgânica no tratamento F.parcial durante 34 dias de experimento.	46
Figura 26: Colônias cocóides aderidas na matéria orgânica no tratamento 150 μm durante 34 dias de experimento.	47

AGRADECIMENTOS

À banca examinadora pelas observações e contribuições para melhoria dessa dissertação.

Com muito carinho e admiração ao meu orientador, Professor Dr. Paulo Abreu, pela atenção, gentileza, confiança e ensinamentos preciosos durante todo o percurso do mestrado, muito obrigada!!!

Ao Prof. Wilson Wasielesky, pela co-orientação, ideias e importantes sugestões que contribuíram para o desenvolvimento da dissertação;

Ao Alessandro pela grande contribuição durante a realização dos experimentos, sua ajuda foi fundamental.

Ao Sandro pelo auxílio nas análises químicas da água de cultivo.

Ao programa de Pós-Graduação em Aquicultura e a equipe de professores da EMA, que somaram muito na minha formação profissional.

Ao Projeto Camarão e Laboratório de Fitoplâncton pela disponibilização dos materiais necessários para realização dessa dissertação.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

Às grandes amizades que fiz na EMA, em especial aos colegas dos laboratórios de carcinocultura e microalgas pelos ótimos momentos de discussão e descontração.

E claro, a minha família! Meus pais Aurélio e Olivia, minha irmã Jaqueline e meu namorado Hugo... Amo vocês!

RESUMO GERAL

O sistema de produção de camarões em bioflocos (*Biofloc Technology System* - BTF) possui como principal característica a mínima troca de água. O acúmulo de compostos nitrogenados pode causar prejuízos, uma vez que a amônia e o nitrito, quando presentes em elevadas concentrações causam efeito tóxicos para os organismos produzidos. Os microrganismos nitrificantes são eficientes na remoção da amônia e nitrito, porém estes são extremamente sensíveis à vários fatores como pH, oxigênio, temperatura entre outros, e em sistema BFT há indícios de que o tamanho das partículas de Bioflocos podem afetar a atividade de nitrificação. Com isso, a presente Dissertação teve por objetivo avaliar, em três experimentos, se o tamanho dos bioflocos afeta o processo de nitrificação no cultivo do *Litopenaeus vannamei*. No experimento 1, os bioflocos foram separados através de filtração constante com diferentes tamanhos de malhas, sendo este composto por quatro tratamentos: Malhas de 50, 150 e 300 μm , e o tratamento controle sem filtração - S.F. No experimento 2, realizado com malhas maiores os bioflocos foram separados nos tratamentos com malhas de 300 e 600 μm , e o tratamento controle - S.F. O experimento 3 objetivou avaliar a recuperação dos Bioflocos quando estes são reduzidos de tamanho, em conjunto com o processo de nitrificação, este experimento foi composto por três tratamentos, o tratamento onde houve filtração parcial dos bioflocos malhas de 50 μm durante cinco dias, o tratamento com filtração constante com malhas de 150 μm , e o tratamento controle - S.F. Os resultados destes três experimentos indicam que o tamanho dos bioflocos, bem como a quantidade de material em suspensão, não afetam o processo de nitrificação no sistema BFT. Em todos os experimentos os parâmetros de qualidade de água estavam dentro das faixas ideais para a produção de *L. vannamei*. Com relação ao desempenho zootécnico, os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos em que não houve filtração - S.F nos três experimentos. Isto ocorreu devido a maior disponibilidade de bioflocos nestes tratamentos, refletindo diretamente em melhores taxas de ganho de peso e conversão alimentar.

Palavras – chave: Nitrogenados; Filtração; partículas; Malhas.

GENERAL ABSTRACT

The system of shrimp production in bioflocs (Biofloc Technology System - BTF) has with main characteristic the minimum water exchange. The accumulation of nitrogenous compounds can cause damages, once the ammonia and nitrite, when present in high concentrations cause toxic effects to the produced organisms. The nitrifying microorganisms are efficient in the removal of ammonia and nitrite, however these are extremely sensitive to several factors such as pH, oxygen, temperature and others, in the BFT system there are indications that the size of the particles of Bioflocs can affect the activity of nitrification. Thereby, the present dissertation had as objective evaluate, in three experiments, whether the size of the bioflocs affects the nitrification process in cultivation of *Litopenaeus vannamei*. In the experiment 1, the bioflocs were separated through constant filtration with different mesh sizes, and it was composed of four treatments: 50, 150 and 300 μm meshes, and the control treatment without filtration - S.F. In experiment 2, performed with larger meshes the bioflocs were separated in the treatments with meshes of 300 and 600 μm , and the control treatment - S.F. The experiment 3 aimed to evaluate the recovery of the Bioflocs when they has your size reduced, together with the nitrification process, this experiment was composed of three treatments, the treatment where there were partial filtration of bioflocs with meshes of 50 μm for five days, the treatment with constant filtration with meshes of 150 μm , and the control treatment - S.F. The results of these three experiments indicate that the size of the bioflocs as well as the amount of material in suspension, do not affect the nitrification process in the BFT system. In all experiments the water quality parameters were within the ideal ranges for the production of *L. vannamei*. Regarding the zootechnical performance, the best results were obtained in the treatments without filtration - S.F, in the three experiments. This occurred due to the greater availability of bioflocs in these treatments, reflecting directly on better rates of weight gain and feed conversion.

Keywords: Nitrogen compounds; Filtration; Particles; Meshes.

INTRODUÇÃO GERAL

Com a estagnação da pesca e o constante crescimento da população mundial existe uma demanda para se aumentar a produção de alimentos de origem animal. Sendo assim, a produção de organismos aquáticos, incluindo em especial peixes e crustáceos, se destaca como um importante fator para garantir a segurança alimentar, possuindo grande potencial na geração de renda e se destacando entre os setores de produção animal que mais cresce no mundo (FAO, 2016).

A partir de 1990 houve a expansão da Carcinocultura brasileira com o desenvolvimento e exploração econômica do camarão branco *Litopenaeus vannamei*, produzido em cativeiro (FAO, 2012). A adoção desta espécie alvo da produção de camarão no Brasil foi decorrente do seu alto grau de rusticidade, possuindo grande capacidade de adaptação, altas taxas de crescimento e sobrevivência, além de grande aceitação no mercado (Barbieri Jr. e Ostrensky, 2002).

A expansão da atividade aquícola em conjunto com o surgimento de enfermidades e emissão de efluentes no meio ambiente, tem despertado a atenção de órgãos ambientais fiscalizadores, bem como as Organizações Não Governamentais (ONGs), quanto a sustentabilidade da atividade (Burford et al. 2003). Assim novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas e aprimoradas nas últimas décadas, como a produção de organismos aquáticos em bioflocos (Sistema BFT - *Biofloc Technology System*). Este sistema visa desenvolver uma atividade que está de acordo com os preceitos de sustentabilidade, otimizando o uso de água e reduzindo o descarte de efluentes, além de reduzir custos e elevar a produtividade (Avnimelech, 1999).

O Sistema BFT possui como principal característica a reutilização da água por diversos ciclos consecutivos, minimizando a necessidade de captação de água (Wasielesky et al. 2006). Os agregados e/ou flocos microbianos são constituídos basicamente por bactérias, protozoários, microalgas, metazoários, exoesqueletos, entre outros, predominando uma biota aeróbica e heterotrófica (De Schryver et al. 2008). As Bactérias heterotróficas presentes nos Bioflocos garantem a assimilação de compostos nitrogenados, mantendo a qualidade da água. Além disso, os microorganismos presentes nos Bioflocos representam uma importante fonte de proteína e outros importantes componentes alimentares que suplementam a nutrição dos camarões (Jory et al. 2001; Samocha et al. 2007). Segundo Burford et al. (2004), o camarão branco *Litopenaeus vannamei*, possui capacidade de ingerir e reter quantidades significativas da

produtividade natural no sistema. Nesse contexto Wasielesky et al. (2006) concluíram que o material particulado suspenso em sistemas de cultivo de *L. vannamei* com tecnologia BFT pode melhorar significativamente a conversão alimentar, o que resulta a em menores custos de produção relacionados ao fornecimento de rações, sendo esta suprida em parte, pela produção natural associada aos Bioflocos.

Na produção de camarões em sistemas de Bioflocos há acúmulo de compostos nitrogenados, devido à baixas taxas de renovação de água e altas densidades de estocagem, dessa forma, tem-se grandes concentrações em mg/L^{-1} de Nitrogênio amoniacal, oriunda da excreção dos organismos produzidos e decomposição da matéria orgânica, e de nitrito, composto resultante da excreção da amônia. Quando esses compostos estão presentes em elevadas concentrações são prejudiciais para os organismos aquáticos devido à sua alta toxicidade (Li et al. 2007; Boyd, 2007).

O sistema BFT favorece a assimilação dos compostos nitrogenados pelos microrganismos heterotróficos que possuem capacidade de síntese protéica a partir da incorporação de Carbono orgânico e da amônia. Para isso, o balanço de Carbono e Nitrogênio (C:N) no sistema deve ser mantido na proporção de aproximadamente 15 a 20:1 (Avnimelech, 1999).

Apesar da capacidade dos microrganismos heterotróficos de reduzir a concentração de amônia no sistema BFT, pode-se dizer que são os autotróficos nitrificantes os mais eficientes nesse processo. Entretanto, os microrganismos nitrificantes apresentam crescimento muito lento, além de serem extremamente suscetíveis a uma variedade de fatores como, por exemplo, temperatura, oxigênio dissolvido, pH e alcalinidade (Boyd, 2007).

Existem diversos grupos de microrganismos que são capazes de realizar a nitrificação, por exemplo, a oxidação da amônia é realizada tanto por Bactérias como por Arquéias, sendo estas: Bactérias oxidadoras de amônia (AOB – *ammonia – oxidizing bacteria*) e Arquéias oxidadoras de amônia (AOA – *ammonia – oxidizing archaea*), enquanto que a oxidação do nitrito é realizada por Bactérias oxidadoras de nitrito (NOB – *nitrite – oxidizing bacteria*), havendo também os organismos Anammox que é a oxidação anaeróbica de amônia. Estes microrganismos são predominantemente autotróficos, sendo assim, os grupos AOB, AOA e NOB requerem oxigênio para seu metabolismo enquanto que os Anammox realizam suas funções em zonas anóxicas (Ward, 2013).

Estes microrganismos formam colônias e são encontradas em vários habitats, como na água doce, salgada, salobra e águas residuais. No grupo AOA destaca-se a espécie *Nitrosopumilus maritimus* como oxidadora de amônia (Konneke et al. 2005). No grupo AOB se destacam os gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* e *Nitrospira*, porém a *Nitrosomonas* são mais conhecidas, geralmente estas estão em maior abundância nos flocos e biofilme. No grupo NOB encontram-se os gêneros como: *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus* e *Nitrospina*, sendo as *Nitrobacter* mais conhecidas no processo de nitratação (Madigan et al. 2004).

Os microrganismos nitrificantes autotróficos, quando comparados aos heterotróficos, possuem maior eficiência na remoção do nitrogênio, porém levam maior tempo para metabolizar a amônia, devido à sua lenta taxa de crescimento, necessitando de dias para se desenvolver. Geralmente os microrganismos heterotróficos são dominantes no sistema, apresentam-se em maior número do que os autotróficos, pois seu crescimento ocorre dentro de algumas horas, competindo por oxigênio e espaço dentro do sistema (Figuerola e Silverstein, 1992; Wijeyekoon et al. 2004).

Sabe-se que a nitrificação pode ser facilmente inibida devido à alta sensibilidade destes microrganismos e complexidade das interações que ocorrem no sistema ligados a fatores ambientais e operacionais como níveis de pH, alcalinidade e concentração de oxigênio dissolvido (Carvalho et al. 2006), além disso, estudos recentes mostram que o tamanho dos flocos pode também interferir no processo de nitrificação.

Lara et al. (2017), avaliaram os efeitos de diferentes tipos de aeradores disponíveis no mercado sobre a formação de bioflocos. Os autores observaram que um dos aeradores testados foi responsável pela a quebra de bioflocos, levando à redução do tamanho da partícula. Nos tratamentos com menor tamanho de partículas de bioflocos teve um maior acúmulo de amônia. Desta forma os autores sugeriram que a redução do tamanho das partículas afetaria negativamente o processo de nitrificação. Estas observações serviram de base para o desenvolvimento da presente Dissertação, onde se procurou avaliar se o tamanho dos bioflocos realmente afeta o processo de nitrificação, considerando-se os seguintes objetivos:

OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do tamanho de agregados microbianos no processo de nitrificação no cultivo do camarão branco *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos.

Objetivos específicos

- ✓ Verificar o efeito do tamanho de agregados microbianos no processo de nitrificação no cultivo do camarão *L. vannamei* em sistema BFT – Filtração com malhas de 50, 150 e 300µm.
- ✓ Verificar o efeito do tamanho de agregados microbianos no processo de nitrificação no cultivo do camarão *L. vannamei* em sistema BFT – Filtração com malhas de 300 e 600µm.
- ✓ Verificar o efeito da recuperação de agregados microbianos através da filtração parcial no processo de nitrificação no cultivo do camarão *L. vannamei* em sistema BFT.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avnimelech Y (1999) Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176:227-235
- Barbieri RCJ, Ostrensky A (2002) Camarões Marinhos - Engorda. Viçosa. 370p
- Boyd CE (2007) Nitrification important process in aquaculture. *Global Aquaculture Advocate* 5: 64-66
- Burford MA, Thompson PJ, Bauman RH, Pearson DC (2003) Nutrient and microbial dynamics in high-intensive, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219: 393-411
- Burford MA, Thompson PJ, Bauman RH, Pearson DC (2004) The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensive, zero-exchange system. *Aquaculture* 232:525-537
- Carvalho G, Meyer RL, Yuan Z, Keller J (2006) Differential distribution of ammonia- and nitrite-oxidising bacteria in flocs and granules from a nitrifying/denitrifying sequencing batch reactor. *Enzyme and microbial technology* 39 (7): 1392-1398
- De Schryver PD, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W (2008) The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 277:125-137
- FAO (2012) The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma SOFIA
- FAO (2016) El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos Roma 224 p
- Figuerola L, Silverstein J (1992) The effect of particulate organic matter on biofilm nitrification. *Water Environment Research* 64:728
- Jory DE, Cabrerias RT, Durwood MD, Fegan D, Lee GP, Lawrence AL, Jackson JC, McIntosh PR, Castañeda AJ, (2001) A global review of shrimp feed management: status and perspectives. *Aquaculture the World* Aquaculture Society, Baton Rouge, LA USA
- Konneke M, Bernhard AE, De La Torre JR, (2005) Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature* 437: 543-546
- Lara G, Krummenauer D, Abreu PC, Poersch LH, Wasielesky W Jr (2017) The use of different aerators on *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition. *Aquaculture* 25:147-162
- Li EL, Chen Z, Zeng X, Chen NYU, Q Lai, Qin JG (2007) Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture* 265: 385-390
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J (2004) *Microbiologia de Brock*. 10 ed. São Paulo, Prentice Hall

Samocha TM, Patnaik S, Speed M, Ali A, Burger JM, Almeida RV, Ayub Z, Harisanto M, Horowitz A, Brock DL (2007) Use of molasses as source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering* 36: 184-191

Ward BB, (2013) Nitrification. Princeton University, Princeton, NJ, USA

Wasielesky W Jr, Atwood HI, Stokes A, Browdy CL (2006) Effect of natural production in brown water super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258:396–403

Wijeyekoon S, Mino T, Satoh H, Matsuo T (2004) Effects of substrate loading rate on biofilm structure. *Water Research* 38:2479-2488

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Efeito do tamanho de agregado microbiano no processo de nitrificação durante a produção do camarão branco *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos (Biofloc Technology - BFT).

Janaína Souza^a, Wilson Wasielesky Jr.^b, Paulo Cesar Abreu^a

^a - Laboratório de Produção de Microalgas, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Av. Itália, Km 8, Rio Grande, RS 96201-900, Brasil

^b - Laboratório de Carcinocultura, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG

(Este trabalho será submetido à revista Aquaculture)

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, em três experimentos, o efeito do tamanho dos Bioflocos no processo de nitrificação durante a produção do camarão *Litopenaeus vannamei* em sistema BFT. Em todos os experimentos utilizou-se 1% de inóculo de bioflocos. Foram realizadas medidas de temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, pH, alcalinidade, amônia, nitrito e nitrato. Somente no experimento 3 foram realizadas observações qualitativas dos microrganismos através da técnica de Laranja de Acridina. Foram realizadas coletas de água para fotografar e medir os bioflocos. No experimento 1, os bioflocos foram separados através de filtração com malhas de 50, 150 e 300 μm , além de um tratamento controle sem filtração (S.F.). A partir do 10º dia as concentrações de amônia decresceram no tratamento S.F., enquanto nos tratamentos com filtração seguiram oscilando com altos valores, todos chegando a 4 mg L^{-1} até o término do experimento. Valores menores de nitrito também ocorreram no tratamento S.F., enquanto nos demais tratamentos as concentrações chegaram a 6,3 e 5,6 mg L^{-1} nos tratamentos 50 e 150 μm . No experimento 2, os bioflocos foram separados com malhas maiores, de 300 e 600 μm além do tratamento S.F. No 35º dia as concentrações de amônia decresceram no tratamento S.F., enquanto que os tratamentos com filtração houve decréscimo somente no 40º dia. O nitrito apresentou altas concentrações nos tratamentos com filtração, 600 e 300 μm , com 7,8 e 4,9 mg L^{-1} , respectivamente, ocorrendo a diminuição deste composto no final do experimento, enquanto que no S.F. a concentração máxima foi de 2,3 mg L^{-1} . O experimento 3 objetivou avaliar a recuperação dos bioflocos no processo de nitrificação através de filtração parcial, este experimento foi composto por três tratamentos, filtração parcial durante cinco dias com malhas de 50 μm , filtração constante com malhas de 150 μm , e o tratamento sem filtração (S.F.). No tratamento com filtração parcial, houve um retardo no processo de nitrificação após a filtração e este se comportou como o tratamento 150 μm , apresentando maiores oscilações e concentrações altas dos compostos nitrogenados. Os resultados destes três experimentos indicam que o tamanho dos bioflocos não afeta o processo de nitrificação no sistema BFT. Em comum aos três experimentos tem-se que a manipulação dos bioflocos pela filtração é que parece ser o fator que interfere na oxidação dos compostos nitrogenados por, provavelmente afetar a estrutura do bioflocos e gradientes formados de oxigênio e compostos nitrogenados.

Palavras-Chave: Nitrogenados; Filtração; Malhas.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate, in three experiments, the effect of the size of the Bioflocs in the nitrification process during the production of shrimp *Litopenaeus vannamei* in BFT system. In all experiments it was used 1% of inoculum of biofloc. Were realized measurements of temperature, salinity, dissolved oxygen, pH, alkalinity, ammonia, nitrite and nitrate. Only in experiment 3 were realized qualitative observations of microorganisms using the Acridine Orange technique. Were realized water collections to photograph and measure the bioflocs. In experiment 1, the bioflocs were separated by filtration with meshes of 50, 150 and 300 μm , Besides a control treatment without filtration (S.F.). From the 10th day the concentrations of ammonia decreased in the S.F. treatment, While in the treatments with filtration continued oscillating with high values, all coming to 4 mg L^{-1} until the end of the experiment. Minor nitrite values also occurred in the S.F. treatment, while in the other treatments the concentrations reached 6.3 and 5.6 mg L^{-1} in the treatments 50 and 150 μm . In experiment 2, the bioflocs were separated with larger meshes, 300 and 600 μm in addition to the S.F. treatment on the 35th day the concentrations of ammonia decreased in S.F. treatment, while in treatments with filtration there was decrease only on the 40th day. The nitrite presented high concentrations in the treatments with filtration, 600 and 300 μm , with 7.8 and 4.9 mg L^{-1} , respectively, occurring the decrease of this compound at the end of the experiment, whereas in S.F. the maximum concentration was 2,3 mg L^{-1} . The experiment 3 aimed to evaluate the recovery of the bioflocs in the nitrification process through partial filtration, this experiment was composed of three treatments, partial filtration during five days with meshes of 50 μm , constant filtration with meshes of 150 μm , and treatment without filtration (S.F.). In the treatment with partial filtration, there was a delay in the nitrification process after the filtration and he behaved as the treatment 150 μm , presenting higher oscillations and high concentrations of the nitrogen compounds. The results of these three experiments indicate that the size of the bioflocs does not affect the nitrification process in the BFT system. In common in the three experiments, The manipulation of the bioflocs by the filtration is that it seems to be the factor that interferes in the oxidation of the nitrogen compounds, probably by affect the structure of the bioflocs and formed gradients of oxygen and nitrogen compounds.

Keywords: Nitrogen compounds; Filtration; Particles; Meshes.

1. INTRODUÇÃO

A produção superintensiva de organismos aquáticos em sistema de bioflocos (*Biofloc Technology System – BFT*) é caracterizada por haver pouca troca de água, permite a utilização de altas densidades de estocagem e biota predominantemente aeróbia e heterotrófica formadora de flocos microbianos. Estes microorganismos, além de atuarem na manutenção da qualidade da água nos cultivos, também representam uma importante fonte complementar de alimentos para os organismos cultivados (De Schryver et al. 2008; Avnimelech, 2009).

A retirada de compostos nitrogenados em sistema de bioflocos é o fator chave para o sucesso deste sistema de produção. Neste sistema a diminuição especialmente de amônia é realizada por bactérias heterotróficas, devido a assimilação direta do nitrogênio amoniacal, que é incorporado à biomassa de bactérias heterotróficas, após a adição de carbono orgânico (melaço, ou outro tipo de açúcar). Porém, a adição de uma fonte de carbono orgânico é um processo paliativo, pois é difícil o controle dos níveis de amônia, uma vez que o incremento deste nitrogenado pode ocorrer rapidamente após a fertilização com carbono orgânico devido ao consumo das bactérias heterotróficas por protozoários, havendo a necessidade de nova adição de melaço (De Schryver et al. 2008; Silva et al. 2013). Desta forma, a fertilização do meio de cultivo com melaço é feita até que a nitrificação realizada pelas bactérias autotróficas nitrificantes se estabeleça (Hargreaves, 2006).

Desta forma, os microrganismos nitrificantes são aqueles que realmente garantem a remoção completa dos compostos nitrogenados, mas estes têm crescimento lento em comparação com os microrganismos heterotróficos, e são também mais suscetíveis às condições ambientais. Os microrganismos autotróficos nitrificantes são responsáveis por realizar a oxidação da amônia em nitrito e posteriormente deste em nitrato, eliminando do sistema as duas formas de compostos nitrogenados, que apresentam maior toxicidade para os organismos produzidos (Ebeling et al. 2006; Hargreaves 2006).

Os grupos de microrganismos nitrificantes são classificados como autotróficos por obterem a energia para seu crescimento da oxidação da forma inorgânica do nitrogênio. Havendo assim dois domínios: Bactérias e Arquéias, as Bactérias Amônia-Oxidantes (AOB), que oxidam a amônia em nitrito, são dos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus*, e *Nitrosovibrio*, enquanto que os gêneros das bactérias Nitrito-Oxidantes (NOB), que oxidam nitrito em nitrato, são *Nitrobacter*,

Nitrococcus, *Nitrospira*, e *Nitrospina* (Madigan et al 2004). No grupo Arquéias Amônia-Oxidantes (AOA) destaca-se a espécie *Nitrosopumilus maritimus* como oxidadora de amônia (Konneke et al. 2005).

De modo geral a comunidade nitrificante é bastante sensível a fatores ambientais e operacionais como pH extremos, baixas concentrações de oxigênio dissolvido e oscilações de temperatura (Koops e Pommerening, 2001). Além destes, o tamanho e a composição do biofilme também parece influenciar a ação das bactérias nitrificantes (Carvalho et al. 2006; Delatolla et al. 2009). Recentemente, Lara et al. (2017), ao estudar o efeito de diferentes tipos de aeradores sobre as comunidades microbianas de sistemas BFT verificaram altas concentrações de amônia e baixos níveis de nitrato nos tratamentos com aeradores com hélice e bombas verticais, que apresentaram os menores tamanhos de biofilos. Desta forma, estes autores sugeriram que a redução no tamanho da partícula interferiu negativamente no processo de nitrificação nos sistemas BFT.

Dentro desse contexto, o objetivo do presente estudo foi o de avaliar, em três experimentos, o efeito do tamanho do floco no processo de nitrificação a produção intensiva do camarão branco *Litopenaeus vannamei* em sistema com biofilos microbianos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Local e instalações

Os experimentos foram realizados na Estação Marinha de Aquicultura (EMA), do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande, no município de Rio Grande - RS. Os camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* utilizados nos experimentos foram adquiridos no laboratório comercial Aquatec Ltda (RN), na fase de náuplios, chegando à fase de pós-larvas no setor de larvicultura do laboratório de Carcinocultura da EMA.

No experimento 1 foram utilizadas caixas d'água de 310 litros, com volume útil de 200 litros. Nos experimentos 2 e 3 utilizou-se tanques de 60 litros com volume útil de 40 litros. Nos três experimentos, as caixas d'água foram preenchidas com água marinha um dia antes do início do experimento e mantidos sob aeração constante, com o uso de pedras porosas. Nos experimentos 1 e 2 a temperatura foi mantida apenas com o auxílio de um ar-condicionado, enquanto que no experimento 3 a temperatura foi mantida através de aquecedores elétricos submersos.

Em todos os experimentos utilizou-se 1% de inóculo (tabela 1) de bioflocos proveniente de tanques de produção de camarões *L. vannamei* em sistema de bioflocos da EMA. Nos experimentos sempre que a concentração de amônia ultrapassava 1 mg L^{-1} era realizada fertilização orgânica com a adição de melado de cana, visando-se manter a relação de aproximadamente C:N em 15:1 (Avnimelech, 1999).

Tabela 1: Fontes dos inóculos de Bioflocos oriundos da produção do camarão branco *L. vannamei* da Estação Marinha de Aquicultura – EMA.

Nitrogenados (mg/L^{-1})	Experimento 1 (GH3)	Experimento 2 (GH3)	Experimento 3 (larvicultura)
Amônia	$1,5 \text{ mg/L}^{-1}$	0 mg/L^{-1}	0 mg/L^{-1}
Nitrito	$2,6 \text{ mg/L}^{-1}$	5 mg/L^{-1}	0 mg/L^{-1}
Nitrato	$9,2 \text{ mg/L}^{-1}$	27 mg/L^{-1}	48 mg/L^{-1}

Para a manutenção dos diferentes tamanhos de bioflocos nos experimentos, foi colocado dentro de cada caixa d'água um sistema de filtração composto por cano PVC perfurado, mangueira, malhas com diferentes aberturas e bombas de aquário. As malhas eram colocadas dentro dos canos, as bombas com o auxílio das mangueiras foram responsáveis pela realização de filtração constante, levando à redução das partículas de bioflocos (Figuras 1 e 2).

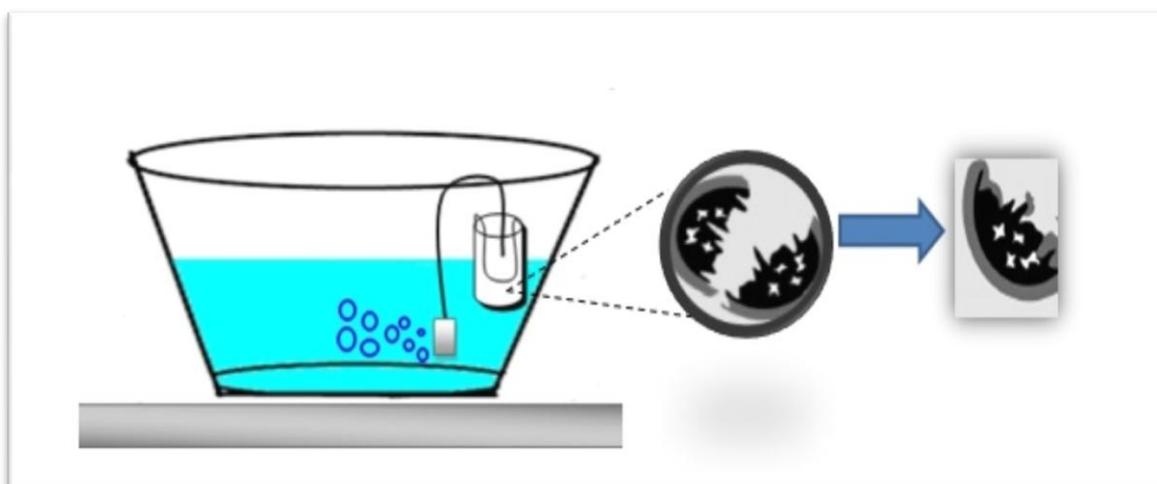


Figura 1: Esquema de sistema para separação de partículas de diferentes tamanhos.



Figura 2: Unidades experimentais mostrando os sistemas de separação de partículas.

A água evaporada era repostada duas vezes por semana com a adição de água doce previamente dechlorada. Ao longo dos experimentos os camarões foram alimentados duas vezes ao dia com ração comercial específica para a espécie, contendo 38% de proteína bruta (Potimar Active 38 – Guabi), a taxa de arraçoamento diária foi de acordo com a metodologia descrita por Jory et al. (2001).

2.2.Desenho Experimental

2.2.1. Experimento 1:

Objetivo: Verificar o efeito do tamanho de agregados microbianos no processo de nitrificação durante a produção do camarão *L. vannamei* ($1,22 \pm 0,46$ g) em sistema BFT – Filtração com malhas de 50, 150 e 300 μ m.

O estudo foi realizado no período entre 06 a 24 de fevereiro de 2016, totalizando 19 dias. O experimento era composto de quatro tratamentos, em triplicata: 1) tratamento 50 μ m (filtração constante de partículas de até 50 μ m); 2) tratamento 150 μ m (filtração constante de partículas de até 150 μ m); 3) tratamento 300 μ m (filtração constante de partículas de até 300 μ m) e 4) tratamento controle - S.F (sem filtração de partículas). Os camarões foram estocados em suas respectivas unidades experimentais, com peso médio inicial de $1,22 \pm 0,46$ g e uma densidade de estocagem de 300 camarões m^3 , totalizando 60 camarões/tanque.

2.2.2. Experimento 2:

Objetivo: Verificar o efeito do tamanho de agregados microbianos no processo de nitrificação durante a produção de camarões *L. vannamei* ($4,13 \pm 0,04$ g) em sistema BFT – Filtração com malhas de 300 e 600 μ m.

O estudo foi realizado no período entre 18 de março a 2 de maio de 2016, totalizando 45 dias e foi composto por três tratamentos, em triplicata: 1) tratamento 300 μm (filtração constante de partículas de até 300 μm); 2) tratamento 600 μm (filtração constante de partículas de até 600 μm) e 3) tratamento controle - S.F (sem filtração de partículas). Os camarões foram estocados em suas respectivas unidades experimentais, com peso médio inicial de $4,13 \pm 0,04$ g a uma densidade de estocagem de 300 camarões m^3 .

2.2.3. Experimento 3:

Objetivo: Verificar o efeito da recuperação de agregados microbianos através da filtração parcial no processo de nitrificação no cultivo do camarão *L. vannamei* em sistema BFT.

O estudo foi realizado no período entre 16 de setembro a 19 de outubro de 2016, totalizando 34 dias. O experimento foi composto de três tratamentos, em triplicata: 1) tratamento 150 μm (filtração constante de partículas de até 150 μm); 2) tratamento F. parcial (filtração parcial de partículas) e 3) tratamento controle - S.F (sem filtração de partículas); No tratamento com filtração parcial foi realizada filtração com malhas de 50 micrometros entre o 6^o e 10^o dia, (totalizando 5 dias). Logo após esse período as malhas foram retiradas e o tratamento seguiu sem filtração até termino do experimento. Os camarões, com peso médio inicial de $1,75 \pm 0,02$ g, foram estocados em suas respectivas unidades experimentais a uma densidade de estocagem de 300 camarões m^3 .

2.3. Parâmetros físicos e químicos

O oxigênio dissolvido e temperatura foram medidos duas vezes ao dia com uso de multiparâmetro YSI Pro 20 (Yellow Springs, EUA). O pH foi medido uma vez ao dia com auxílio de pHmetro digital Mettler Toledo/ FEP20 (Toledo PR, Brasil). A salinidade foi verificada a cada sete dias com refratômetro óptico (Atago, 103, Tóquio, Japão) A alcalinidade (mg L^{-1} de CaCO_3) foi verificada a cada 3 dias, seguindo a metodologia descrita em APHA (1998). Foram realizadas correções de pH e alcalinidade para manutenção dos valores acima de 7 e de 100 $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, respectivamente, adicionando-se cal hidratada Ca(OH)_2 .

2.4. Compostos Nitrogenados

Coletas de água para análise de amônia e nitrito foram realizadas diariamente, e para análise de nitrato a cada sete dias. As concentrações de amônia foram determinadas de acordo com Unesco (1983). Já as medidas de nitrito e nitrato foram realizadas conforme metodologias preconizadas em Strickland e Parsons (1972).

2.5.Sólidos suspensos totais

O peso dos sólidos suspensos totais foi determinado por gravimetria mediante filtração de alíquotas de 20 mL de água em filtros de fibra de vidro GF 50-A. Os filtros foram secos em estufa a 60°C e posteriormente pesados em balança analítica de precisão (Sartorius MC1, analytic AC 210S - São Paulo, Brasil) para determinação de peso inicial. Em seguida ocorria a filtração e, na sequência, os filtros eram recolocados na estufa a 60°C por 24 horas. Após a secagem eram pesados para determinação do peso final. O valor dos sólidos foi estimado pela diferença entre o peso inicial e final de cada filtro e dividido pelo volume filtrado (AOAC, 1999).

2.6.Medições dos bioflocos

A cada dois dias foram realizadas coletas de água para fotografar e medir os flocos. As amostras foram observadas em microscópio Nikon E200 com câmera Moticam 5.0 com magnificação final de 400 x. As medidas foram feitas através do programa Motic Images Plus 3.0. Foram realizadas medidas do eixo maior da partícula.

2.7.Microrganismos

Para a caracterização da comunidade microbiana foram coletados amostras de água das unidades experimentais. As amostras foram fixadas em formol a 4% e mantidos em tubos falcon de 5ml. As amostras fixadas foram filtradas em filtros de membrana escurecidas Nucleopore (0,2µm) e coradas com fluorocromo Laranja de Acridina (Hobbie et al. 1977). Os filtros foram observados em microscópio de epifluorescência Zeiss Axioplan, com magnificação final de 1.000 x e conjunto de filtro azul 487709 – BP 450 – 490; FT 510; LT 520.

2.8.Desempenho zootécnico dos camarões

Biometrias iniciais (n = 100) foram realizadas antes da estocagem dos camarões. Pesagens semanais foram realizadas em 30% dos camarões, sendo a quantidade de ração oferecida ajustada de acordo com o peso médio.

Ao final de cada experimento, todos os camarões vivos foram pesados para avaliação do crescimento e sobrevivência nos diferentes tratamentos. Além destes, foram determinados os seguintes parâmetros:

- ✓ Sobrevivência: (número camarões estocados – número de sobreviventes) x 100;
- ✓ Ganho de peso (g) = Peso médio Final (g) – Peso médio Inicial (g);
- ✓ Biomassa final (g) = peso final de todos os camarões vivos;
- ✓ Produtividade (kg/m³) = (Biomassa final /volume.
- ✓ A taxa de Conversão Alimentar Aparente foi calculada de acordo com a fórmula:

$$TCA=RF/Bf-Bi$$

Onde: TCA= Taxa de conversão alimentar aparente; RF= Ração fornecida; BF= Biomassa Final e BI= Biomassa Inicial;

2.9. Análises estatísticas

Para a análise estatística dos dados experimentais foi utilizado o software STATISTICA 7.0, verificou-se a homocedasticidade (teste de levene) e normalidade (teste de Shapiro Wilk) da distribuição dos dados, e posteriormente realizada a análise de variância de uma via (ANOVA) para detectar possíveis diferenças significativas entre as médias dos tratamentos, sendo detectadas diferenças, foi aplicado o teste “posthoc” de Tukey. Quando os pressupostos não eram atendidos os dados passavam por transformações matemáticas. As análises foram conduzidas com nível de significância de 95% ($\alpha =0,05$) (Zar, 2010).

3. RESULTADOS

3.1.Experimento 1

A salinidade (Figura 3) ao longo do experimento não diferiu estatisticamente ($p>0,05$), o valor mínimo foi de 28,33 no tratamento S.F e valor máximo foi 34,33 no tratamento 50 μm .

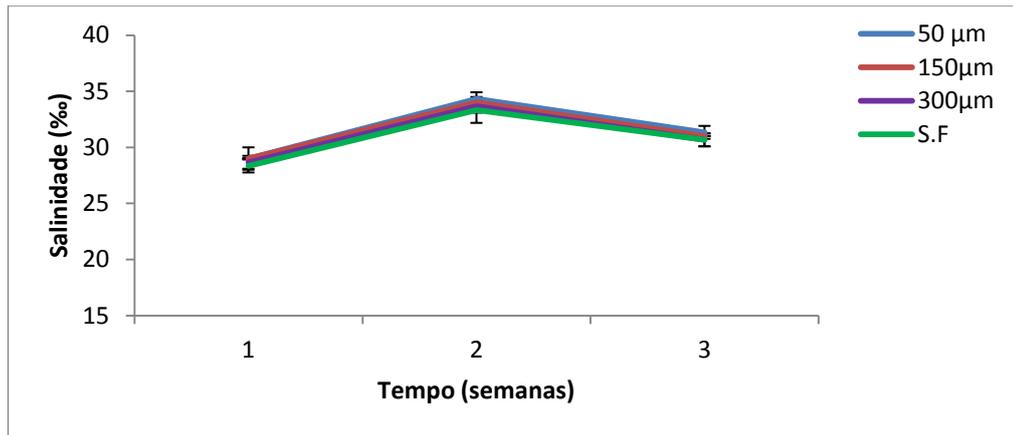


Figura 3: Valor médio (\pm DP) da Salinidade nos tratamentos 50 μ m, 150 μ m, 300 μ m e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

O valor médio da temperatura (Figura 4) foi de 27 °C em todos os tratamentos, não havendo diferença estatística ($p>0,05$) entre os mesmos. O valor mínimo foi de 26,3 °C no tratamento 50 μ m, enquanto que o valor máximo foi de 28,4 °C no tratamento 300 μ m.

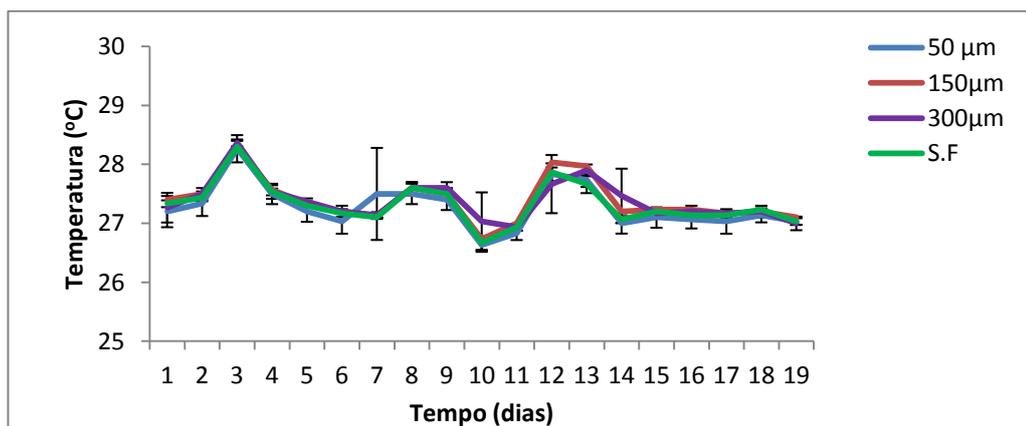


Figura 4: Valor médio (\pm DP) diário de Temperatura (°C) nos tratamentos 50 μ m, 150 μ m, 300 μ m e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

As concentrações de oxigênio dissolvido (Figura 5) se mantiveram constantes durante o experimento sofrendo poucas variações e não diferindo estatisticamente ($p>0,05$) entre os tratamentos. O valor mínimo encontrado foi no tratamento 150 μ m com concentração de 5,17 mg L⁻¹, enquanto que o valor máximo foi no tratamento 50 μ m com concentração de 6,57 mg L⁻¹.

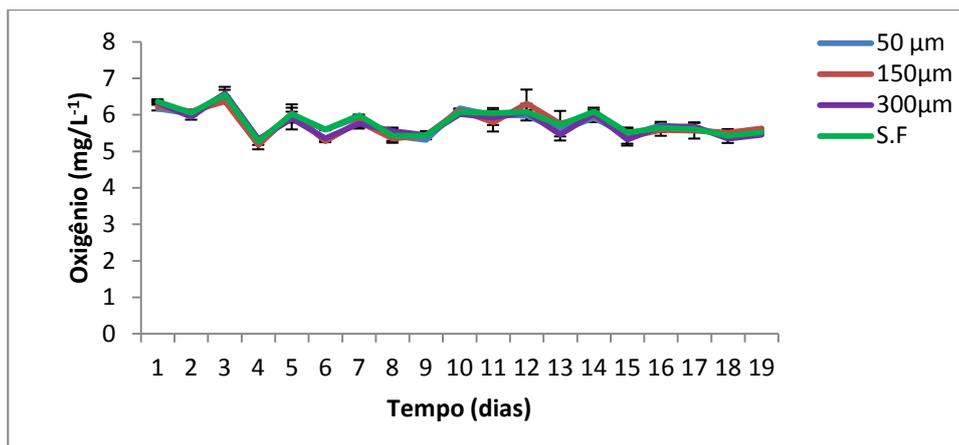
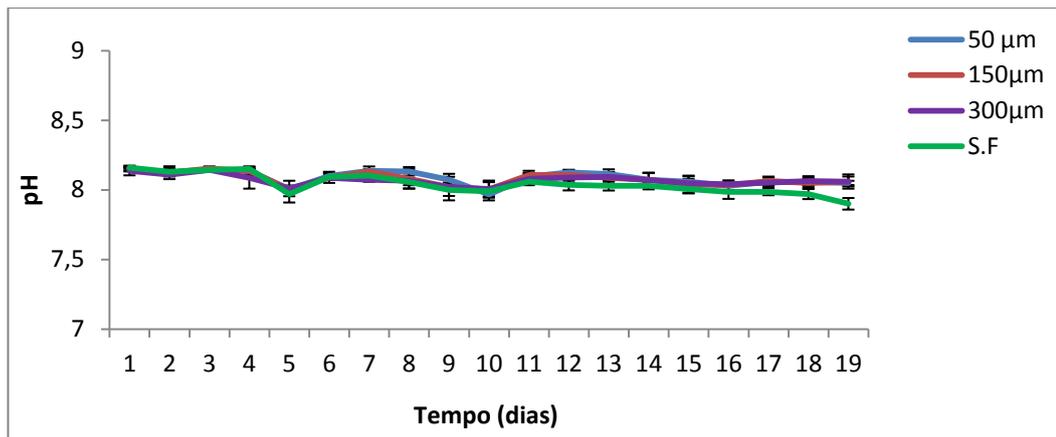


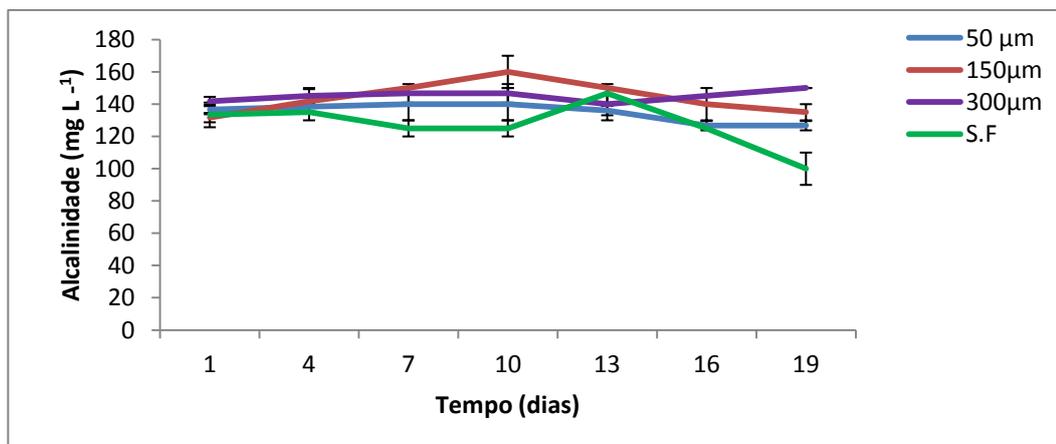
Figura 5: Valor médio (\pm DP) diário de Oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) nos tratamentos 50 μm , 150 μm , 300 μm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

Os valores de pH (Figura 6A) não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos, o valor médio em todos os tratamentos foi de 8,08, o valor mínimo foi registrado no tratamento 50 μm chegando a 7,96, enquanto que a concentração máxima (8,16) foi encontrada no tratamento S.F.

Para os valores de alcalinidade (Figura 6B) o tratamento S.F apresentou concentração média de $127,14 \text{ mg L}^{-1}$, os tratamentos 150 μm e 300 μm apresentaram concentrações médias de $144,04$ e $145,71 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente, enquanto que o tratamento 50 μm a concentração média de alcalinidade foi de $133,57 \text{ mg/L}$. O valor mínimo foi registrado no tratamento S.F (100 mg L^{-1}), enquanto que o valor máximo (160 mg L^{-1}) no tratamento 150 μm . Diferenças estatísticas ($p < 0,05$) foram detectadas nos dias 7 e 10, quando o tratamento sem filtração apresentou concentração 125 mg L^{-1} nesses dois dias, sendo inferior aos tratamentos 150 e 300 μm que registraram concentrações de 150 e $146,6 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente no sétimo dia e 160 e $146,6 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente no décimo dia. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) no último dia de experimento, quando os valores do tratamento sem filtração (100 mg L^{-1}) se mostraram inferior diante dos demais tratamentos.



(A)



(B)

Figura 6: Valores médios (\pm DP) de pH (A) e Alcalinidade (mg L^{-1}) (B) nos tratamentos 50 μm , 150 μm , 300 μm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

A concentração de sólidos suspensos totais (Figura 7) foi maior no tratamento S.F com valor máximo de $126,6 \text{ mg L}^{-1}$ e valor mínimo de $41,6 \text{ mg L}^{-1}$ no tratamento 50 μm . Foram detectadas diferenças estatísticas ($p < 0,05$) na primeira semana entre o tratamento 50 μm e os demais, nas semanas 2 e 3 os tratamentos 150 e 300 foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$), enquanto que o tratamento S.F apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação com o tratamento 50 μm .

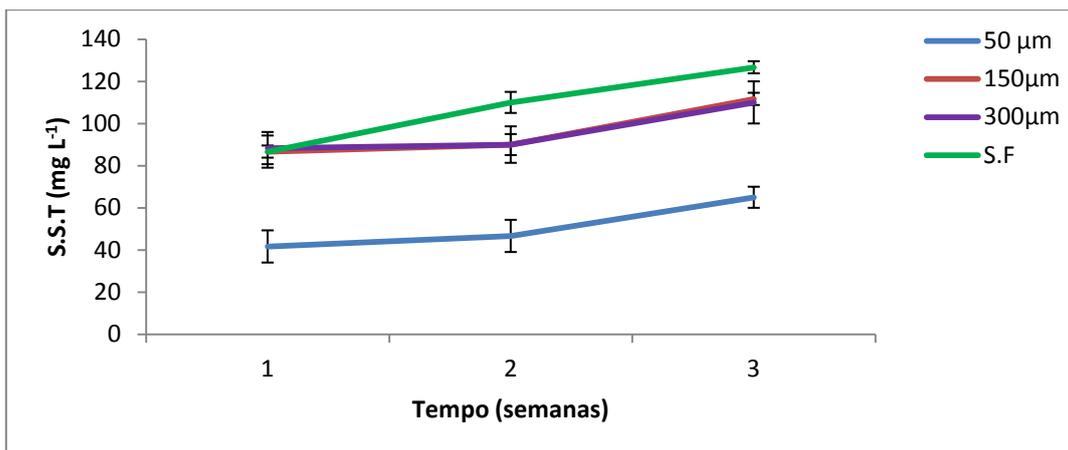


Figura 7: Valor médio (\pm DP) das concentrações de sólidos suspensos totais (mg L^{-1}) nos tratamentos 50 μm , 150 μm , 300 μm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

A Figura 8 apresenta o tamanho dos bioflocos durante o estudo. Houve diferenças estatísticas entre os tratamentos durante todo o experimento ($p < 0,05$). O tamanho máximo chegou a 401,55 μm no tratamento sem filtração, enquanto que nos tratamentos em que as partículas foram filtradas se mantiveram constante de acordo com os tamanhos das respectivas malhas atingindo 45, 140 e 250 micrometros para as malhas de 50, 150 e 300 micrometros respectivamente.

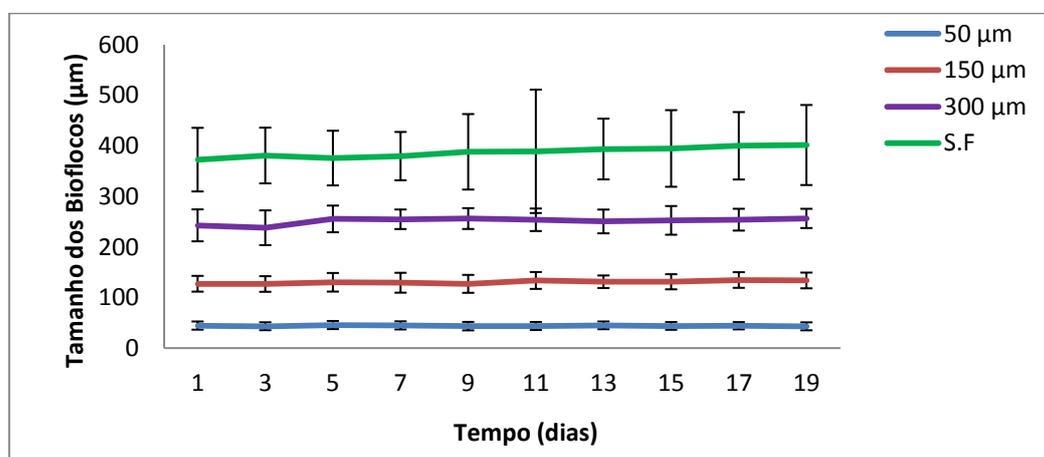
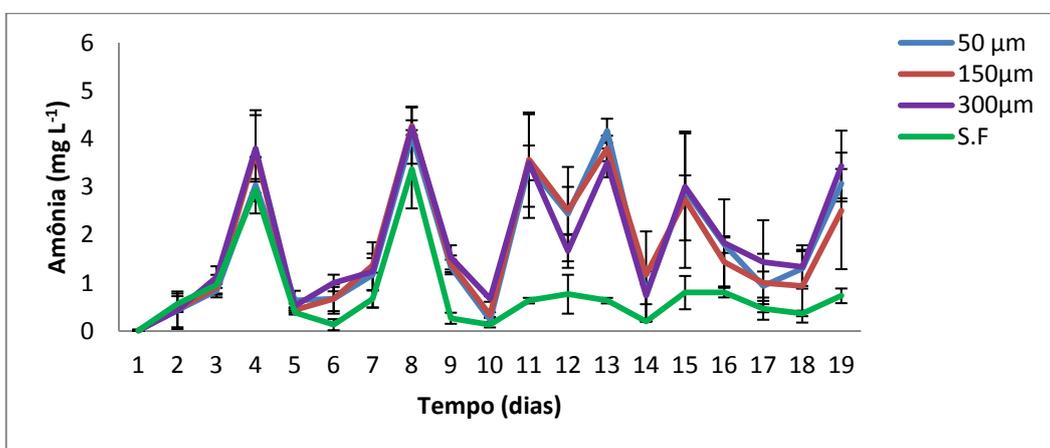


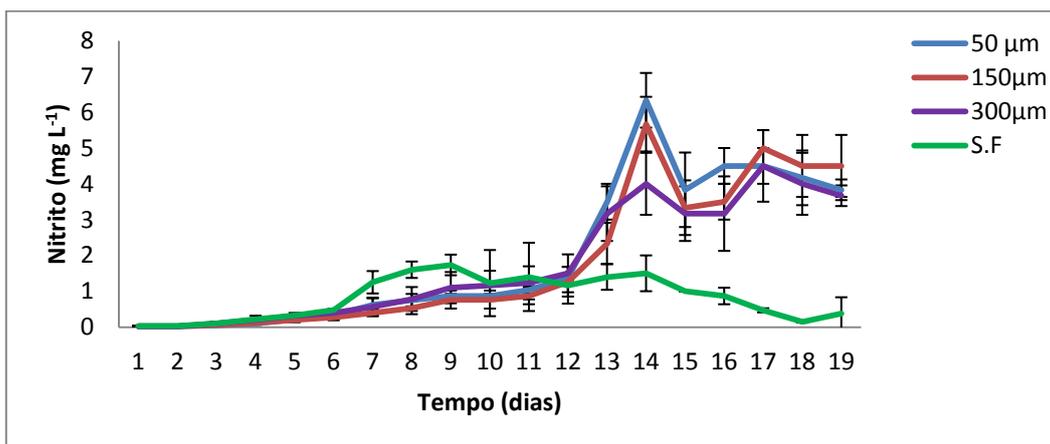
Figura 8: Valor médio (\pm DP) do tamanho dos Bioflocos (μm) nos tratamentos 50 μm , 150 μm , 300 μm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

As concentrações dos compostos nitrogenados são apresentadas na Figura 9. Pode-se observar que a amônia (Figura 9A) apresentou grandes oscilações durante o experimento. Para manter concentrações de amônia abaixo de 1 mg L^{-1} , foram realizadas fertilizações com melação a partir do terceiro dia em todos os tratamentos. Entretanto, a aplicação de melação foi realizada com mais frequência nos tratamentos em

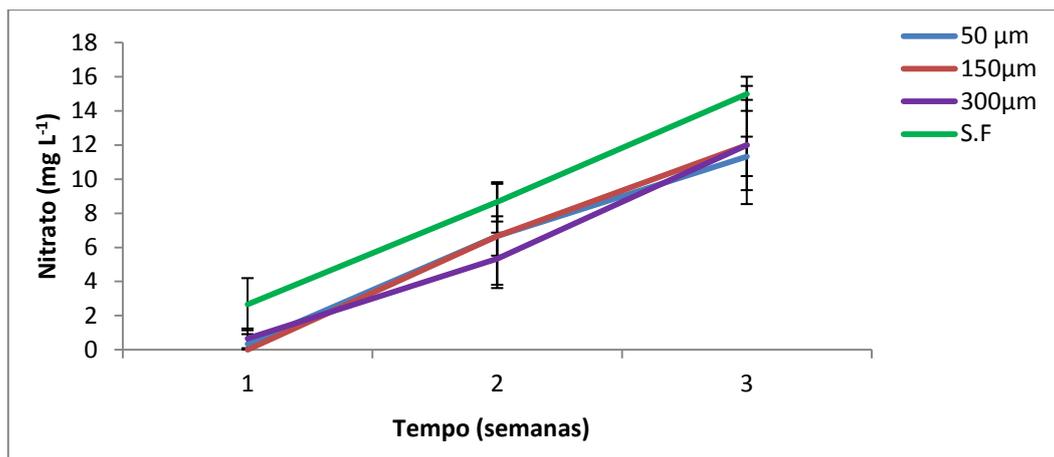
que houve filtração (50, 150 e 300 μ m). Nota-se que a partir do dia 10 as concentrações de amônia decresceram no tratamento S.F., diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) a partir do 11^o dia dos demais tratamentos. Sendo assim, esse tratamento não teve adição de melaço a partir deste dia, enquanto que nos outros tratamentos as concentrações de amônia continuaram oscilando até o final do experimento. O nitrito (Figura 9B) apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), entre os tratamentos a partir do 13^o dia. Valores menores foram medidos no tratamento S.F, enquanto os demais tratamentos seguiram oscilando até o final do estudo. Os dados de nitrato (Figura 9C) mostram que o tratamento S.F apresentou maior concentração diante dos demais tratamentos, porém não houve diferenças estatísticas ($p > 0,05$) durante os dias de experimento.



(A)



(B)



(C)

Figura 9: Valores médios (\pm DP) dos compostos nitrogenados (mg L^{-1}): concentrações de amônia (A), nitrito (B) e nitrato (C) nos tratamentos 50 μm , 150 μm , 300 μm e S.F, durante 19 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

A tabela 2 apresenta os resultados de desempenho zootécnico dos camarões da espécie *L. vannamei* no decorrer dos 19 dias de experimento. Os valores de peso final, ganho de peso e biomassa final dos tratamentos diferiram entre si ($p < 0,05$). O tratamento 50 μm apresentou valores significativamente menores, o tratamento S.F obteve os maiores valores, enquanto que os tratamentos 150 e 300 μm não apresentaram diferença entre si ($p > 0,05$). A sobrevivência foi superior a 95% em todos os tratamentos não diferindo estatisticamente ($p > 0,05$). A taxa de conversão alimentar foi significativamente maior no tratamento 50 μm , enquanto que os demais tratamentos foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$).

Tabela 2: Parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões *L. vannamei* durante o experimento. Os dados são correspondentes a média de 3 repetições \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

	50 μm	300 μm	150 μm	S.F
Peso inicial (g)	1,22 \pm 0,46	1,22 \pm 0,46	1,22 \pm 0,46	1,22 \pm 0,46
Peso final (g)	2,37 \pm 0,89 ^a	2,62 \pm 0,86 ^b	2,59 \pm 0,96 ^b	2,83 \pm 1,16 ^c
Ganho de peso (g)	1,15 \pm 0,89 ^a	1,4 \pm 0,86 ^b	1,37 \pm 0,96 ^b	1,61 \pm 1,16 ^c
Biomassa final (g)	141,2 \pm 6,84 ^a	153,7 \pm 4,28 ^b	152,4 \pm 4,99 ^b	164 \pm 2,05 ^c
Ganho de peso semanal (g)	0,38 \pm 0,03	0,46 \pm 0,02	0,45 \pm 0,01	0,53 \pm 0,01

Sobrevivência (%)	98,88	97,77	97,77	97,22
CAA	2,03 ± 0,18 ^a	1,84 ± 0,12 ^b	1,83 ± 0,11 ^b	1,64 ± 0,04 ^b
Produtividade (Kg/m³)	0,70 ± 0,03	0,76 ± 0,01	0,76 ± 0,02	0,82 ± 0,01

3.2. Experimento 2:

A salinidade (Figura 10) iniciou com valores médios de 29 e terminou com 32 em todos os tratamentos. Ocorreram pequenas oscilações no decorrer do estudo, entretanto não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

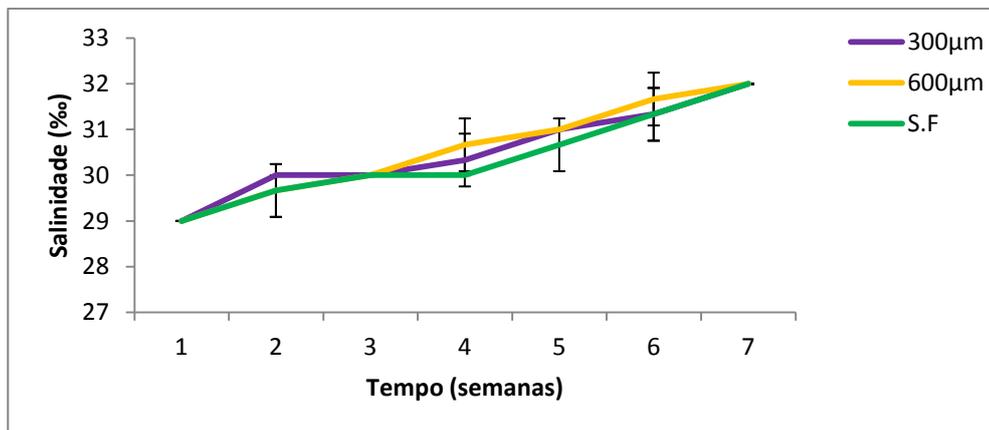


Figura 10: Valores médios (\pm DP) da salinidade nos tratamentos 300 μ m, 600 μ m e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

Os valores de temperatura (Figura 11) não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre os tratamentos, oscilando entre 23 e 29 °C. Nos últimos dias ocorreu uma queda na temperatura devido a entrada de uma frente fria nesse período.

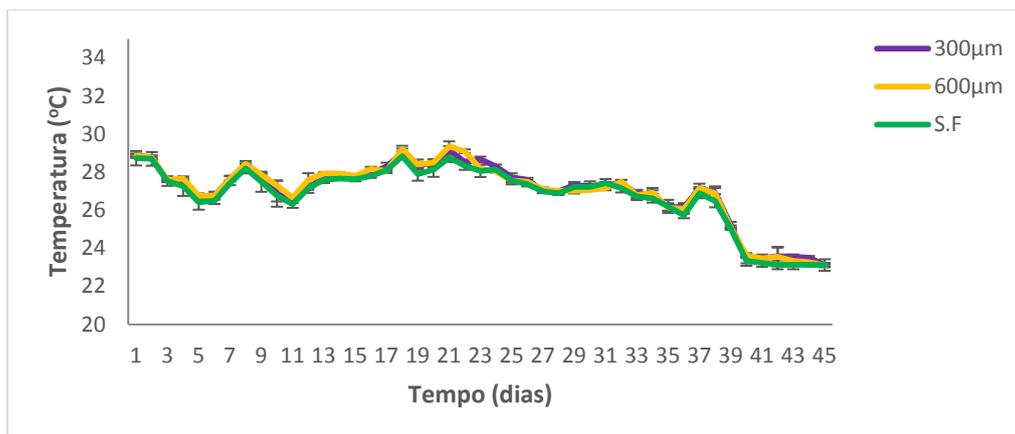


Figura 11: Valor médio (\pm DP) diário de Temperatura ($^{\circ}$ C) nos tratamentos 300 μ m, 600 μ m e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

Os valores de oxigênio dissolvido (Figura 12) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), o valor mínimo foi de 5,12 e máximo de 6,05 mg L^{-1} .

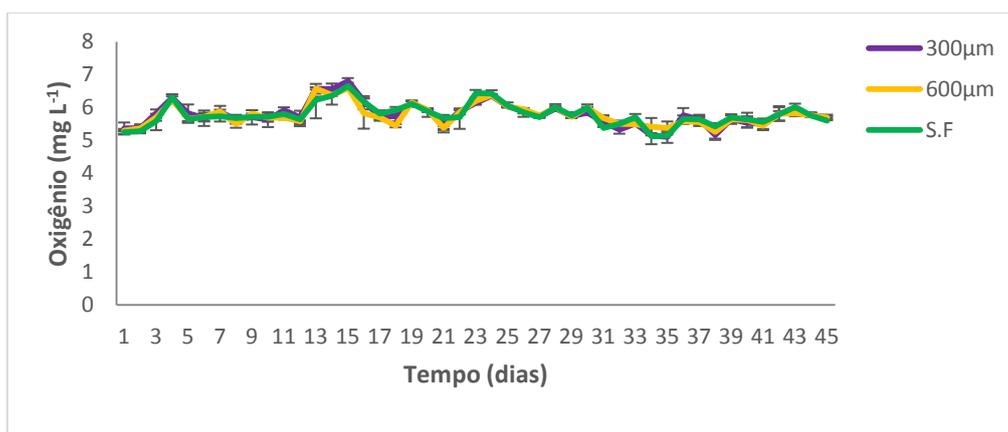
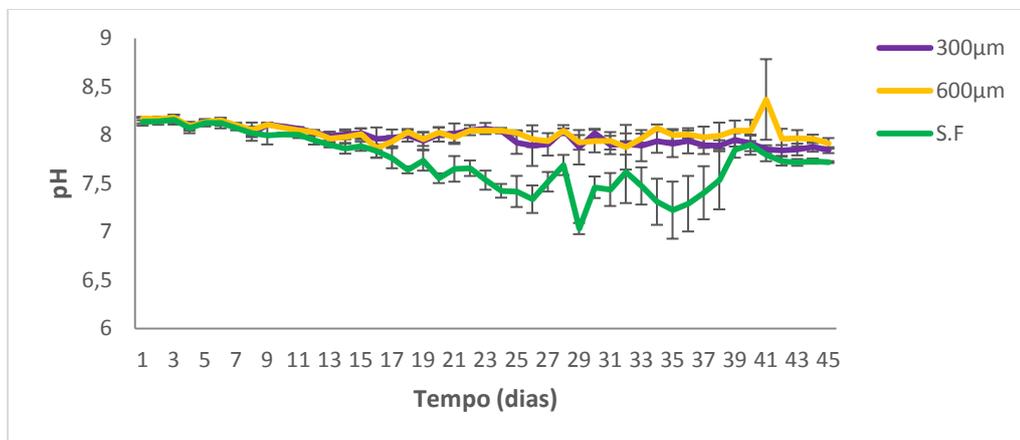


Figura 12: Valor médio (\pm DP) diário de Oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) nos tratamentos 300 μ m, 600 μ m e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

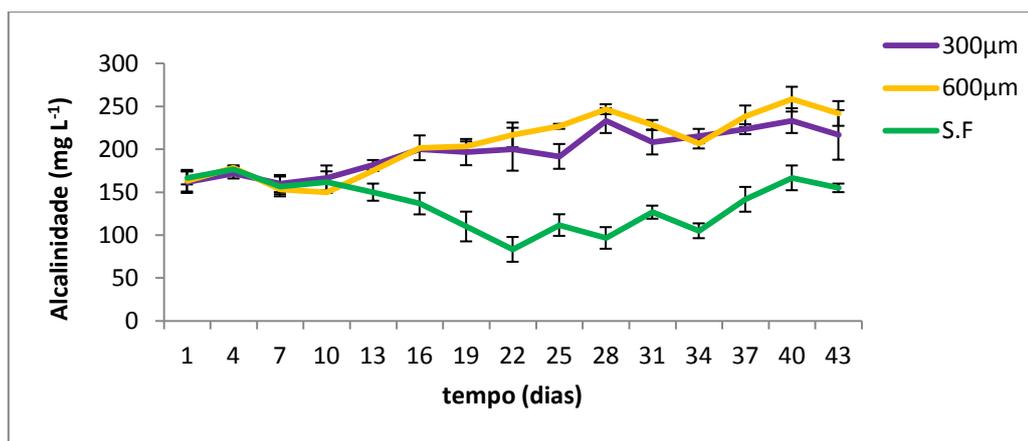
Os valores de pH (Figura 13A) se apresentaram constante até o 16^o dia, a partir do dia 17^o o tratamento S.F apresentou redução no pH, houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre este tratamento e os demais nos dias 20 e 38. Entretanto, a partir do 40^o dia todos os tratamentos foram estatisticamente iguais. A concentração mínima (7,03) foi encontrada no tratamento S.F enquanto que a concentração máxima (8,16) no tratamento 600 μ m.

Para os valores de Alcalinidade (Figura 13B) foram detectadas diferenças estatísticas ($p < 0,05$), a partir do 13^o dia até o termino do experimento, o tratamento sem filtração apresentou concentrações inferiores aos demais tratamentos. A diminuição da alcalinidade foi corrigida com adição de cal hidratada quando a concentração foi

inferior a 100 mg L^{-1} , a concentração mínima ($97,5 \text{ mg L}^{-1}$) foi encontrada no tratamento S.F, enquanto que a concentração máxima (250 mg L^{-1}) foi detectada no tratamento $600 \mu\text{m}$.



(A)



(B)

Figura 13: Valores médios (\pm DP) do pH (A) e Alcalinidade (mg L^{-1}) (B) nos tratamentos $300 \mu\text{m}$, $600 \mu\text{m}$ e S.F., durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

A concentração de sólidos suspensos totais (Figura 14) foi significativamente maior ($p < 0,05$) no tratamento S.F comparado com os demais tratamentos, chegando a 1000 mg L^{-1} . A alta concentração de sólidos neste tratamento precisou ser reduzida através de filtração. Assim, a partir da 5ª semana a concentração diminuiu e voltou a se elevar logo em seguida, enquanto que nos tratamentos com filtração (300 e $600 \mu\text{m}$) as concentrações foram menores, chegando a 460 mg L^{-1} , no final do experimento. Diferenças estatísticas foram detectadas ($p < 0,05$) no tratamento S.F comparado com os tratamentos 300 e $600 \mu\text{m}$ em todas as semanas de experimento.

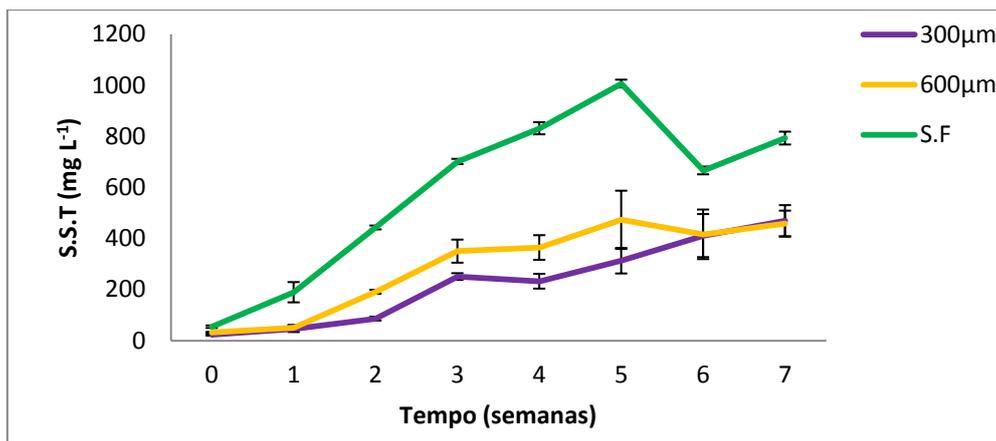


Figura 14: Concentrações médias (\pm DP) de sólidos suspensos totais (mg L^{-1}) nos tratamentos 300 μm , 600 μm e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

A Figura 15 apresenta a variação no tamanho dos flocos no decorrer do experimento. No tratamento S.F as partículas atingiram tamanho máximo de 584 μm , no tratamento com malhas de 600 μm atingiu tamanho máximo de 518 μm , enquanto que no tratamento 300 μm as partículas se mantiveram durante todo experimento com tamanho de 250 μm . Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram detectadas apenas entre os tratamentos S.F e 300 μm durante os dias de experimento.

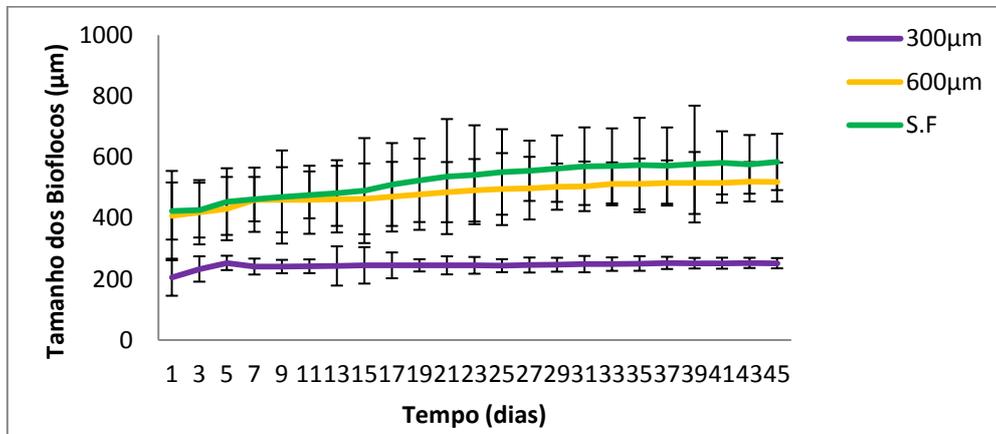


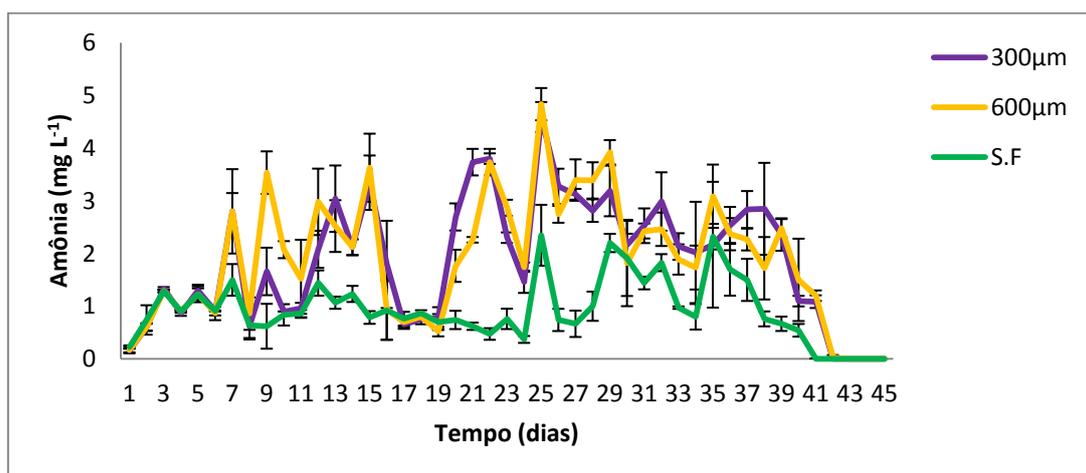
Figura 15: Tamanho médio (\pm DP) dos Bioflocos (μm) nos tratamentos 300 μm , 600 μm e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

Os gráficos dos compostos nitrogenados estão apresentados na Figura 16. No gráfico de amônia (Figura 16A) ocorreram oscilações durante o estudo. Fertilizações com melão foram realizadas cada vez que amônia atingia 1 mg L^{-1} , Todos os tratamentos começaram a receber melão a partir do 3º dia e as fertilizações foram realizadas com mais frequência nos tratamentos 300 e 600 μm . Estes tratamentos apresentaram oscilações no decorrer dos 45 dias de estudo. Nota-se que a partir do dia 35 as concentrações de amônia decresceram no tratamento controle (S.F), não sendo

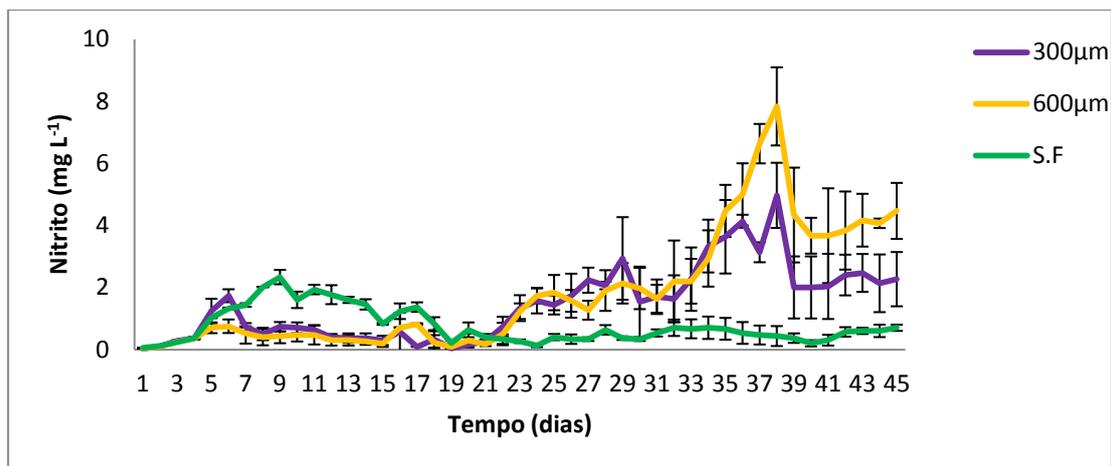
detectada a partir do 41º dia, enquanto que os tratamentos com filtração a amônia começou a decrescer somente no 40º dia. Diferenças estatísticas foram detectadas ($p < 0,05$) nos dias 20 a 23 e 26 a 28 entre o tratamento sem filtração e os demais. A concentração máxima foi $4,86 \text{ mg L}^{-1}$ no tratamento $600 \mu\text{m}$.

O gráfico de nitrito (Figura 16B) mostra que na primeira semana o tratamento sem filtração apresentou concentrações elevadas chegando a 2 mg L^{-1} , enquanto que nos tratamentos $300 \mu\text{m}$ e $600 \mu\text{m}$ se mantiveram abaixo de 1 mg L^{-1} , e depois do 21º dia o tratamento S.F se manteve abaixo de 1 mg L^{-1} , enquanto que os demais tratamentos apresentaram concentrações mais elevadas até o final do experimento. Diferenças estatísticas ($p < 0,05$) foram detectadas a partir do 34º dia entre o tratamento S.F e os demais tratamentos. Os tratamentos com filtração ($300 \mu\text{m}$ e $600 \mu\text{m}$) não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si.

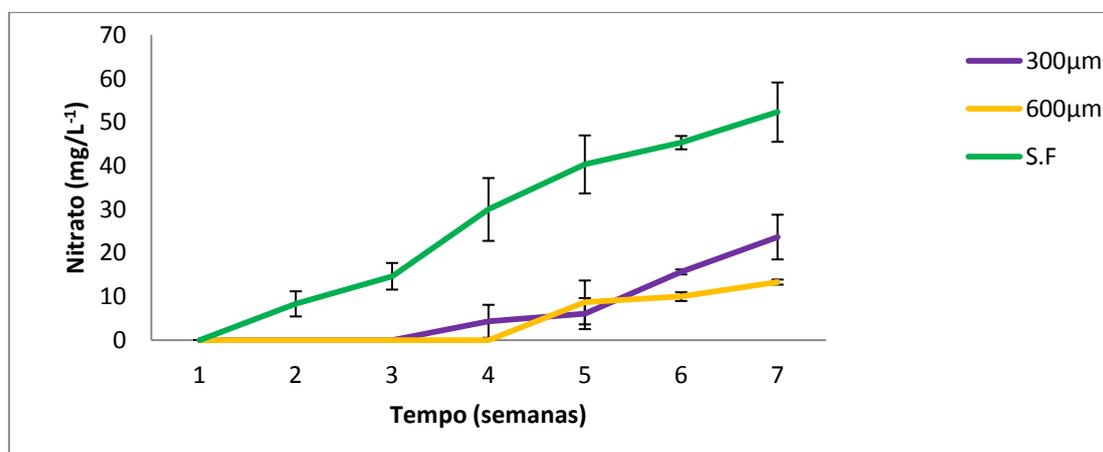
O nitrato (Figura 16C) apresentou concentrações crescentes em todos os tratamentos, chegando a 50 mg L^{-1} (concentração máxima) no tratamento S.F., enquanto que níveis de nitrato não foram detectáveis nas 3 primeiras semanas para os demais tratamentos, elevando-se somente a partir da terceira semana, quando atingiu os valores máximos de 23 e 13 mg L^{-1} para os tratamentos $300 \mu\text{m}$ e $600 \mu\text{m}$, respectivamente, ao final do experimento. Diferenças estatísticas foram detectadas ($p < 0,05$) no tratamento S.F durante as semanas de estudo, os tratamentos $300 \mu\text{m}$ e $600 \mu\text{m}$ foram significativamente iguais ($p > 0,05$).



(A)



(B)



(C)

Figura 16: Valores médios (\pm DP) dos compostos nitrogenados (mg L^{-1}): concentrações de amônia (A), nitrito (B) e nitrato (C) nos tratamentos 300 μm , 600 μm e S.F, durante 45 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

A Tabela 3 mostra os resultados de desempenho zootécnico dos camarões *L. vannamei* no decorrer dos 45 dias de experimento. Os valores de peso final, ganho de peso e conversão alimentar foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$) para o tratamento S.F e 600 μm , enquanto que o tratamento com malhas de até 300 μm apresentou valores significativamente inferiores ($p < 0,05$). A biomassa final e produtividade apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre todos os tratamentos. O tratamento S.F teve a menor sobrevivência sendo estatisticamente diferente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos.

Tabela 3: Parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões *L. vannamei* durante o experimento. Os dados são correspondentes a média de 3 repetições \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

	300 μm	600 μm	S.F
Peso inicial (g)	4,13 \pm 0,04	4,13 \pm 0,04	4,13 \pm 0,04
Peso final (g)	9,10 \pm 0,17 ^b	9,97 \pm 0,46 ^a	10,03 \pm 0,20 ^a
Ganho de peso (g)	4,97 \pm 0,17 ^b	5,84 \pm 0,46 ^a	5,9 \pm 0,20 ^a
Biomassa final (g)	127,33 \pm 6,71 ^b	146,16 \pm 6,41 ^c	112,1 \pm 7,61 ^a
Ganho de peso semanal (g)	0,71 \pm 0,02	0,83 \pm 0,05	0,84 \pm 0,04
Sobrevivência (%)	93,33 ^b	97,77 ^b	79,99 ^a
CAA	1,96 \pm 0,89 ^b	1,76 \pm 0,72 ^a	1,76 \pm 1,17 ^a
Produtividade (kg/m³)	3,18 \pm 3,65 ^b	3,65 \pm 0,09 ^c	2,80 \pm 0,05 ^a

3.3. Experimento 3

A salinidade (Figura 17) se elevou no decorrer do experimento. Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos, sendo o valor mínimo 30 e máximo 33.

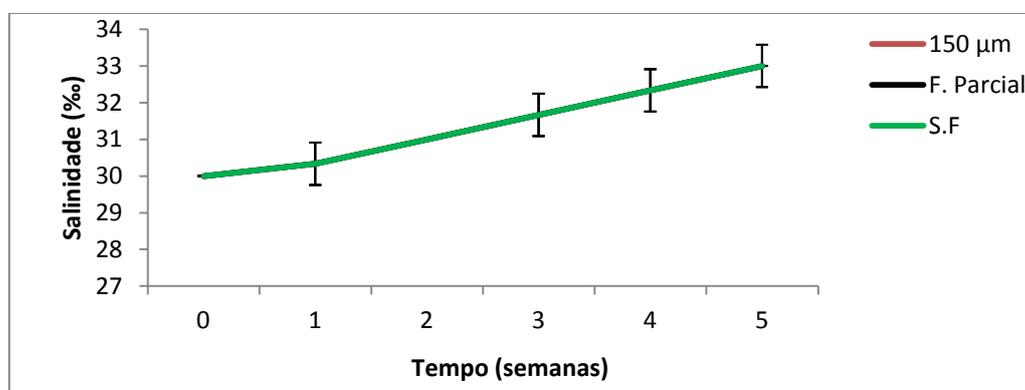


Figura 17: Valor Médio (\pm DP) da salinidade nos tratamentos 150 μm , F.Parcial e S.F, e durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

A temperatura (Figura 18) apresentou poucas variações ao longo do experimento, variando entre 26 e 27 °C. Não houve diferenças estatísticas ($p>0,05$) entre os tratamentos.

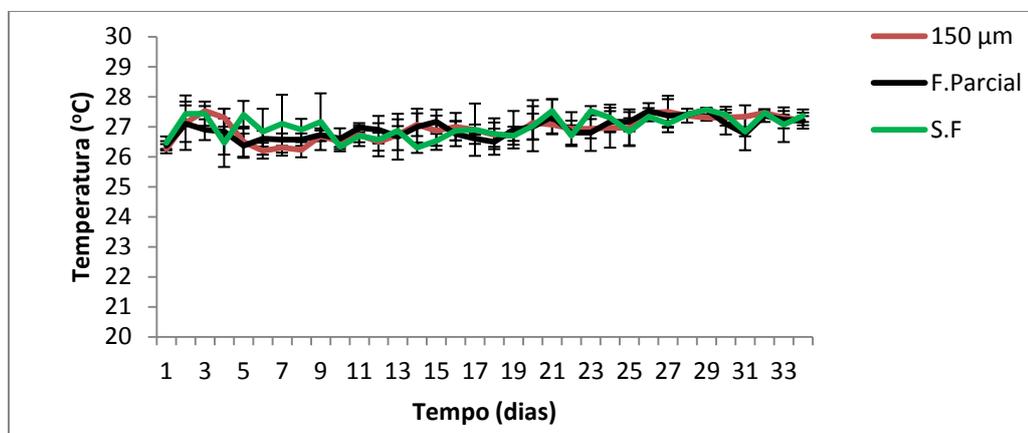


Figura 18: Valor médio (\pm DP) diário de Temperatura (°C) nos tratamentos 150 µm, F.Parcial e S.F, e durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

Os valores de oxigênio dissolvido são apresentados na Figura 19. O valor médio foi de 5,3 mg L⁻¹ e houve pouca variação ao longo do experimento. Além disso, este parâmetro não apresentou diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos.

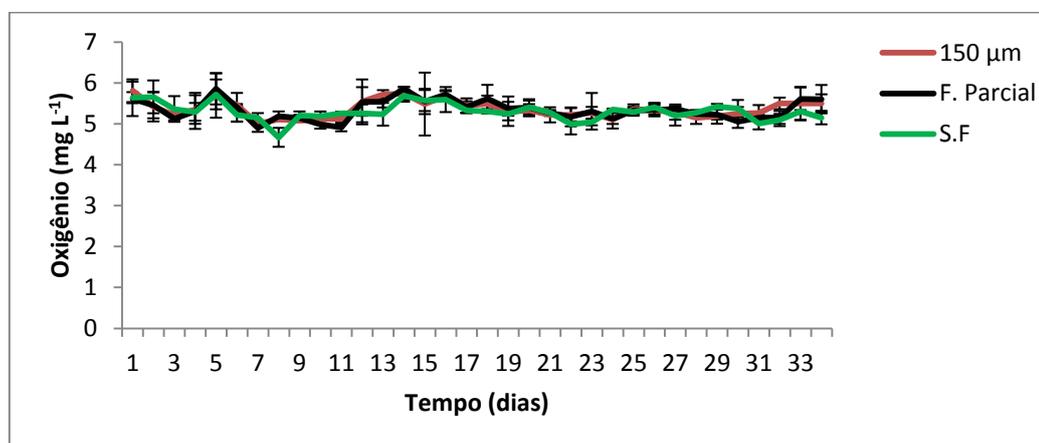
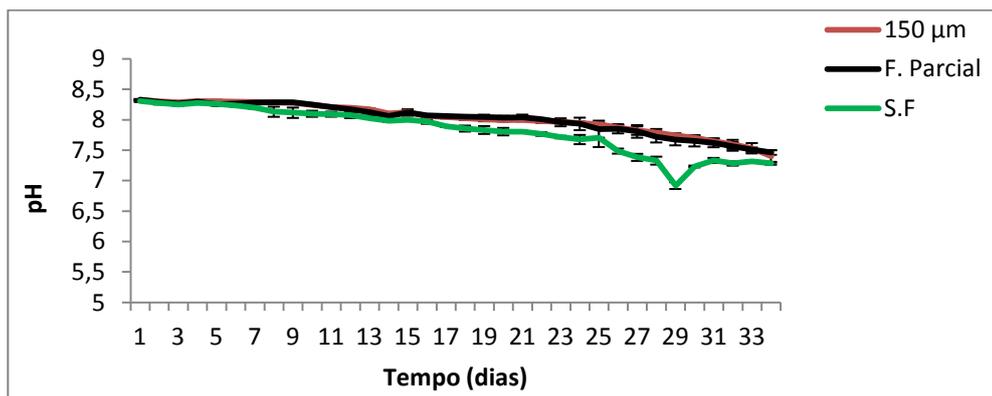


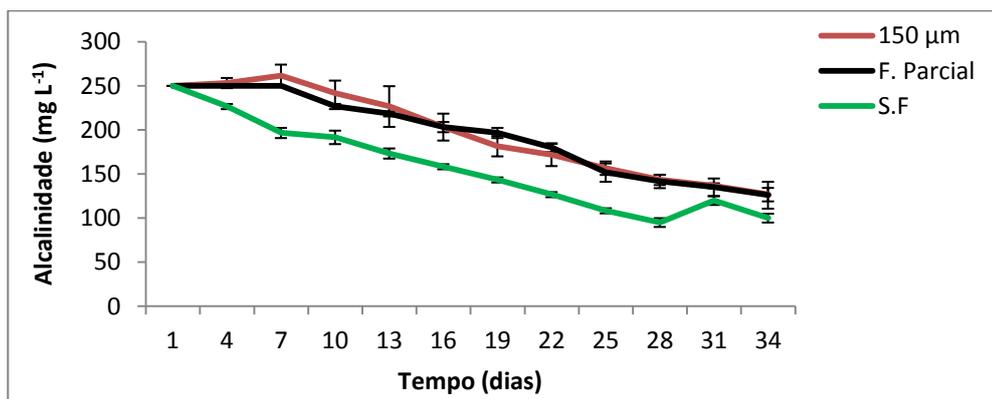
Figura 19: Valor médio (\pm DP) diário de oxigênio dissolvido (mg L⁻¹) nos tratamentos 150 µm, F.Parcial e S.F, durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

Para os valores de pH (Figura 20A) houve diferença estatística ($p<0,05$) entre o tratamento S.F e os outros dois tratamentos. Diferenças estatísticas foram detectadas ($p<0,05$) no dia 29, quando o tratamento S.F apresentou pH de 6,92 e os demais tratamentos apresentaram valores de 7,67 e 7,74 para os tratamentos 150 e com filtração parcial, respectivamente. Vale ressaltar que quando o pH atingiu valor inferior a 7 foi realizada correção com o uso de cal hidratada.

As concentrações de alcalinidade (Figura 20B) iniciaram com 250 mg L⁻¹ em todos os tratamentos, no decorrer dos dias as concentrações do tratamento S.F foi inferior aos demais tratamentos. Houve diferenças estatísticas (p<0,05) durante o experimento, exceto nos dias 31 e 34. No término do experimento o tratamento S.F atingiu 100 mg L⁻¹ enquanto os tratamentos 150 µm e com filtração parcial apresentaram concentrações de 126 mg L⁻¹.



(A)



(B)

Figura 20: Valores médios (\pm DP) de pH (A) e Alcalinidade (mg L⁻¹) (B) nos tratamentos 150 µm, F.Parcial e S.F, durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

As concentrações de sólidos suspensos totais (Figura 21) foram crescentes no decorrer do estudo. O tratamento S.F. apresentou os maiores valores, chegando a 856,66 mg L⁻¹, diferindo estatisticamente (p<0,05) dos tratamentos 150 µm e filtração parcial, exceto na 1^o semana. Os tratamentos 150 µm e filtração parcial não apresentaram diferenças significativas (p>0,05) entre si durante o experimento.

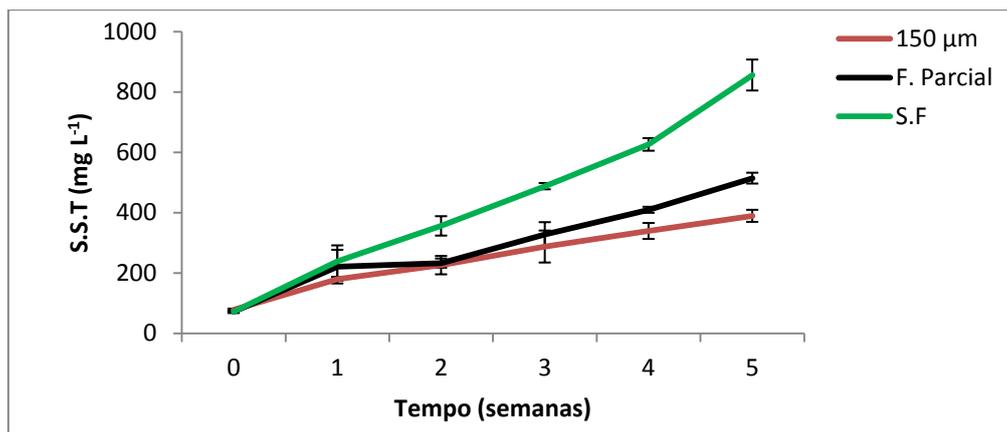


Figura 21: Valores médios (\pm DP) das concentrações de sólidos suspensos totais (mg L^{-1}) nos tratamentos 150 μm , F.Parcial e S.F, e durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

A Figura 22 mostra o tamanho dos bioflocos no decorrer do experimento, o tamanho máximo chegou a 380 μm no tratamento S.F, enquanto que no tratamento com malhas de 150 μm as partículas se mantiveram, em média, com 140 μm . No tratamento em que houve filtração parcial as partículas iniciaram o experimento com tamanho de 315 μm (similar ao tratamento S.F). No sexto dia iniciou-se a filtração em malha de 50 μm por 5 dias, durante esses dias as partículas foram diminuindo atingindo valor mínimo de 49,29 μm no 11º dia. Quando as malhas foram retiradas as partículas começaram a aumentar de tamanho chegando a 199 μm no final do experimento. Diferenças estatísticas foram detectadas em todo estudo para os tratamentos S.F e 150 μm , enquanto o tratamento com filtração parcial foi significativamente igual ($p > 0,05$) ao tratamento S.F entre os dias 1 e 7 e ao tratamento 150 μm entre 18º e 28º dia de estudo.

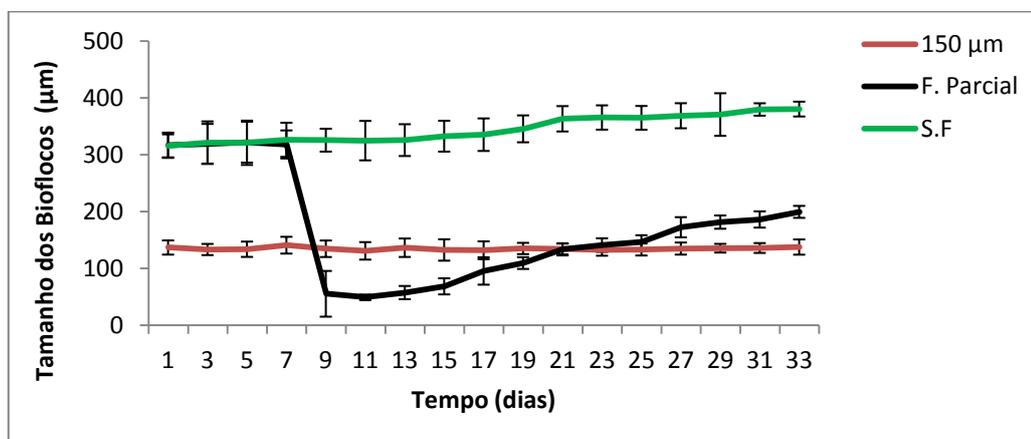
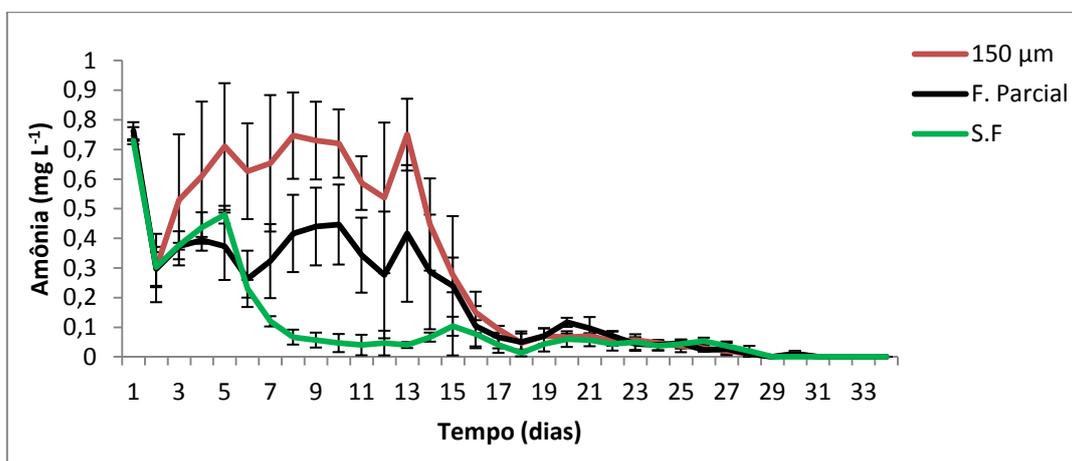


Figura 22: Valor médio (\pm DP) do tamanho dos bioflocos (μm) nos tratamentos 150 μm , F.Parcial e S.F, durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

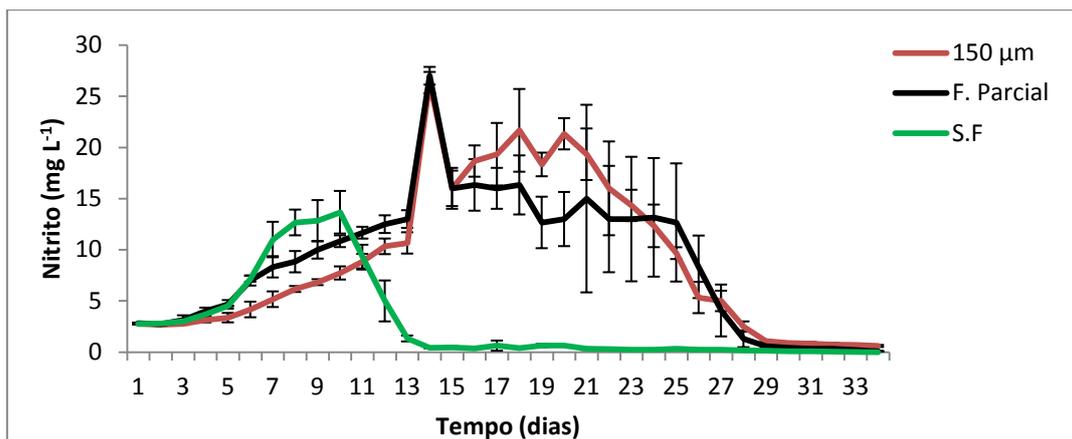
Para as concentrações de amônia (Figura 23A) diferenças estatísticas foram detectadas ($p < 0,05$) somente para os tratamentos S.F e 150 μm entre os dias 8 e 14. No tratamento S.F a amônia se estabilizou a partir do 8º dia em níveis baixos, enquanto os tratamentos 150 μm e com filtração parcial tiveram maiores oscilações. Vale ressaltar que a amônia não atingiu a 1 mg L^{-1} em nenhum tratamento, assim não houve fertilização com melação.

O nitrito (Figura 23B) apresenta maiores valores nos tratamentos filtração parcial e 150 μm , ambos chegando a 27 mgL^{-1} no 14º dia. O tratamento S.F se estabilizou com baixos valores a partir do no 13º dia de experimento, enquanto que nos outros dois tratamentos o nitrito baixou a partir do 28º dia. Foram detectadas diferenças significativas ($p < 0,05$) a partir do 12º dia entre o tratamento S.F e os demais. A partir do 28º dia todos os tratamentos foram significativamente iguais ($p > 0,05$) até o termino do estudo.

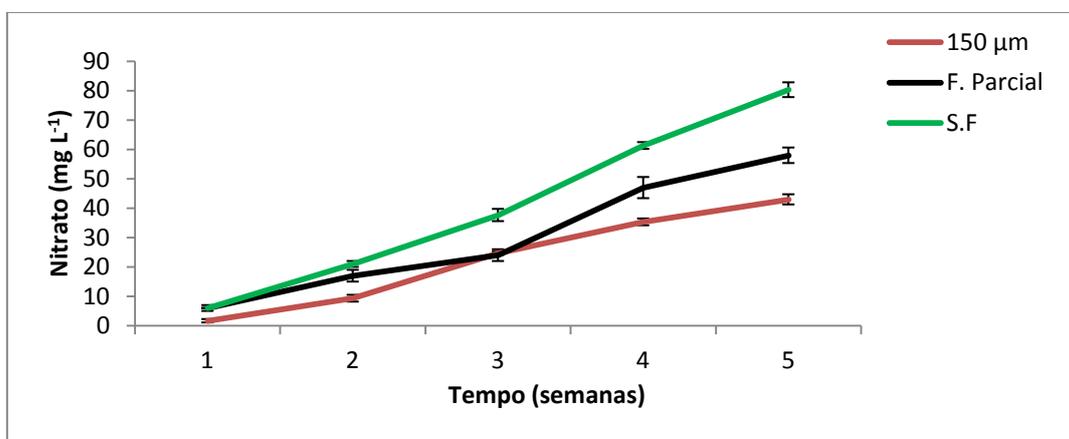
Os maiores valores de nitrato (Figura 23C) foram medidos no tratamento S.F no decorrer do experimento. Diferenças estatísticas ($p < 0,05$) foram encontradas a partir da segunda semana, o tratamento S.F foi diferente dos demais tratamentos. Entre os tratamentos 150 μm e filtração parcial houve diferença significativa ($p < 0,05$) somente na última semana de experimento.



(A)



(B)



(C)

Figura 23: Valores médios (\pm DP) dos compostos nitrogenados (mg L^{-1}): concentrações de amônia (A), nitrito (B) e nitrato (C) nos tratamentos 150 μm , F.parcial e S.F., durante 34 dias de experimento. Valores médios \pm desvio padrão para três repetições.

Os resultados de desempenho zootécnico dos camarões da espécie *L. vannamei* no decorrer dos 34 dias de experimento estão apresentados na Tabela 4. Os valores de peso final, ganho de peso, biomassa final, ganho de peso semanal, conversão alimentar aparente e produtividade no tratamento S.F foram significativamente maiores ($p < 0,05$) do que os demais tratamentos. A sobrevivência foi superior a 95% em todos os tratamentos não diferindo estatisticamente ($p > 0,05$).

Tabela 4: Parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões *L. vannamei* durante o experimento. Os dados são correspondentes a média de 3 repetições \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

	150 μm	S.F	F. Parcial
Peso inicial (g)	1,75 \pm 0,02	1,75 \pm 0,02	1,75 \pm 0,02

Peso final (g)	5,30 ± 0,32 ^b	6,45 ± 0,04 ^a	5,48 ± 0,45 ^b
Ganho de peso (g)	3,55 ± 0,32 ^b	4,70 ± 0,04 ^a	3,73 ± 0,45 ^b
Biomassa final (g)	75,97 ± 0,17 ^b	96,81 ± 3,46 ^a	80,51 ± 9,21 ^b
Ganho de peso semanal (g)	0,71 ± 0,06 ^b	0,94 ± 0,01 ^a	0,74 ± 0,09 ^b
Sobrevivência (%)	96	98	98
CAA	2,44 ± 0,24 ^b	1,72 ± 0,02 ^a	2,26 ± 0,38 ^b
Produtividade (Kg/m³)	1,89 ± 0,13 ^b	2,42 ± 0,01 ^a	2,01 ± 0,23 ^b

3.3.1. Microrganismos

As análises das laminas foram realizadas apenas para os dias 1, 9 18 e 29 para o tratamento S.F, e 13, 21 e 29 para os tratamentos com filtração parcial e 150 µm. Estas datas foram escolhidas em função da ocorrência de variações significativas nas concentrações de amônia e nitrito.

A seguir apresentamos uma descrição qualitativa da composição de microrganismos em cada tratamento para estes dias de coleta.

Tratamento S.F: No 1º dia foram encontradas colônias de microrganismos do tipo cocos, enquanto que bactérias Filamentosas não foram encontradas. No 9º dia havia presença de colônias do tipo cocóides livres, algumas filamentosas foram encontradas.

No 18º dia houve presença de colônias de microrganismos bacilos (Figura 24A) e colônias cocóides livres (Figura 24B). Também ocorreram bactérias filamentosas em número crescente comparado ao dia 9. No 29º dia notou-se presença de colônias aderidas aos bioflocos, nesse dia os microrganismos do tipo cocos se encontravam em número reduzido comparado aos primeiros dias. Verificou-se grande abundância de bactérias filamentosas.

Destaca-se que as colônias de microrganismos surgiram nos períodos onde houve maior decréscimo de amônia e nitrito neste tratamento.

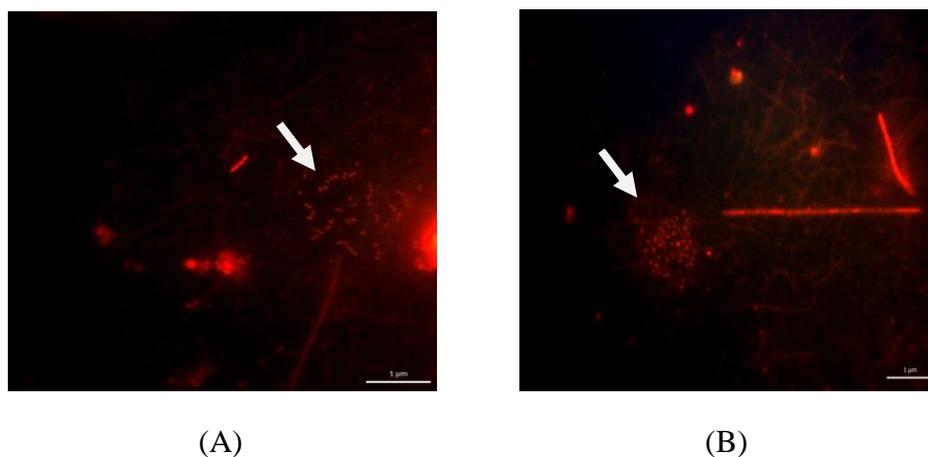


Figura 24: Bactérias Bacilos (A) e Colônias cocóides livres (B) no tratamento S.F., durante 34 dias de experimento.

Tratamento Filtração parcial: No 13^o dia, foram encontradas colônias cocóides, cocóides livres e aderidas, foi observado poucas bactérias filamentosas. No 21^o dia, houve presença de colônias cocóides, cocóides livres e aderidas no biofilme, percebeu-se um número crescente de bactérias filamentosas. No 29^o dia detectou-se presença de colônias cocóides e colônias do morfotipo bacilos aderidas no biofilme e matéria orgânica (Figura 25). Os microrganismos do tipo cocos, aparentemente em menor número comparado aos dias 13 e 21, enquanto que era abundante o número de bactérias filamentosas comparados aos dias 13 e 21;

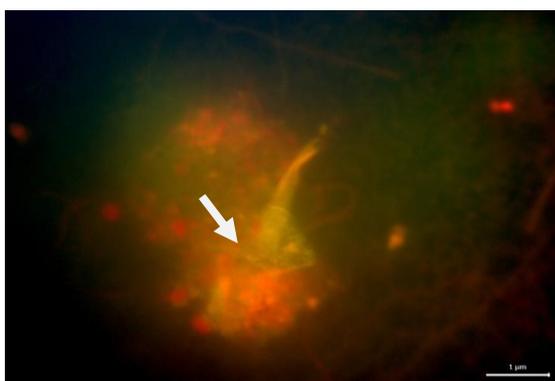


Figura 25: Colônias aderidas na matéria orgânica no tratamento F.parcial durante 34 dias de experimento.

Tratamento 150 µm: No 13^o dia, foram encontradas colônias cocóides aderidas (Figura 26) e poucas bactérias filamentosas. No 21^o dia, encontrou-se colônias cocóides

e bacilos aderidas no biofloco e na matéria orgânica, foi observado presença de bactérias filamentosas. No 29º dia, detectou-se colônias cocóides aderidas no biofloco. Houve uma redução na quantidade de microrganismos cocóides comparados aos dias 13 e 21, enquanto que as bactérias filamentosas estavam em abundância comparados aos dias 13 e 21.



Figura 26: Colônias cocóides aderidas na matéria orgânica no tratamento 150 µm durante 34 dias de experimento.

4. DISCUSSÃO

Na produção de camarões em sistemas intensivos, a qualidade da água pode ser comprometida devido ao acúmulo de compostos nitrogenados. A entrada da Amônia ocorre através da excreção dos animais e decomposição da matéria orgânica. O nitrito é um composto resultante da oxidação da amônia. Quando esses compostos estão presentes em elevadas concentrações podem inviabilizar a produção devido à sua toxicidade, apresentando riscos para o crescimento dos camarões (Li e Chen, 2003; Li et al. 2007; Boyd, 2007).

O mecanismo de toxicidade da amônia pode variar conforme a fase de vida do organismo e com as características físico-químicas da água. Nesse contexto, o metabolismo celular é alterado com o aumento da alcalinidade, e quando em altas concentrações há aumento de consumo de oxigênio na água. Dessa forma o efeito tóxico dos compostos nitrogenados se deve ao aumento na respiração. Por exemplo, a amônia na forma não ionizada (NH_3) penetra as brânquias dos camarões provocando efeitos letais, como necrose e fusão das lamelas branquiais (Thurston et al. 1981). Já a toxicidade do nitrito possui relação direta com o transporte de oxigênio, pois este composto se liga à hemocianina, transformando-a em metahemocianina, a qual é incapaz de transferir oxigênio para os tecidos, assim ocorre redução na quantidade de

oxigênio disponível para o metabolismo causando hipóxia e posteriormente a morte dos camarões (Frias-Espericueta e Paéz-Osuna, 2001).

Em sistemas convencionais de aquicultura, o acúmulo dos compostos nitrogenados leva a uma necessidade de se realizar a renovação de água em grandes volumes. Já a produção de camarões em meio aos bioflocos é considerado um sistema sustentável para a carcinocultura, uma vez que este sistema se destaca pelo menor uso de água. No sistema BFT, dependendo do equilíbrio entre os processos de assimilação e remoção de nitrogênio realizados pelas bactérias, cerca de 40% de nitrogênio que entra fica retido no sistema devido à altas densidades de estocagem e mínima troca de água (Silva et al. 2013).

A manipulação da razão Carbono:Nitrogênio auxilia no crescimento de microrganismos heterotróficos capazes de transformar o nitrogênio inorgânico e carbono dissolvido em biomassa microbiana, servindo também para a alimentação do camarão, além de melhorar a qualidade da água (Samocho et al. 2007; Avnimelech, 2009).

Em geral, a alteração realizada na relação C:N com o uso de ricas fontes em carbono orgânico (melaço, dextrose etc.) leva a um rápido controle de altas concentrações de amônia, pois estimula o crescimento de bactérias heterotróficas, que incorporam os compostos nitrogenados através da síntese protéica, com a adição do carbono orgânico (Avnimelech, 1999), mas este é um processo paliativo, uma vez que o consumo das bactérias produzidas pelos protozoários leva a um novo aumento nas concentrações de amônia, tornando-se necessário a realização de novas fertilizações até que os microrganismos nitrificantes se instalem no sistema, pois estes sim são responsáveis pela retirada significativa e constante de amônia e nitrito dos sistemas de aquicultura (De Schryver et al. 2008; Silva et al. 2013).

Os microrganismos nitrificantes incluindo Bactérias e Arquéias consomem carbono inorgânico e compostos nitrogenados para o seu crescimento. As bactérias são classificadas como bactérias *Amônia-Oxidantes* (AOB) e *Nitrato-Oxidantes* (NOB). Enquanto que as Arquéias se classificam como *Arquéias - oxidantes* (AOA – *ammonia – oxidizing archaea*) As AOB e AOA obtêm sua energia ao utilizar amônia não ionizada, transformando-a em nitrito, enquanto que as NOB obtêm energia a partir da oxidação de nitrito, transformando-o em nitrato (Madigan et al. 2004).

Geralmente esses microrganismos se localizam em bioflocos e no biofilme na forma de colônias (Carvalho, et al. 2006).

Ao compararmos o desempenho dos diferentes grupos de microrganismos, verifica-se que os autotróficos nitrificantes apresentam crescimento lento e baixa produção de biomassa em relação aos heterotróficos. Isso ocorre devido às exigências desses grupos serem distintas, por exemplo, os grupos nitrificantes são sensíveis a variações de oxigênio dissolvido, alcalinidade, pH e temperatura, que interferem no seu desenvolvimento e atividades. Além disso, a nitrificação pode ser afetada por altas concentrações de matéria orgânica, que contribui para o crescimento de heterotróficos, que geralmente estão em maior número do que os autotróficos (Figuroa e Silverstein, 1992; Wijeyekoon et al. 2004).

Lara et al. (2017), avaliaram os efeitos de diferentes tipos de aeradores disponíveis no mercado sobre a formação de bioflocos. Naquele estudo foi observado que determinados aeradores podem provocar a quebra de bioflocos, levando à redução do tamanho da partícula. Foi verificado também que nestas condições havia um maior acúmulo de amônia. Sendo assim, os autores sugeriram que a redução do tamanho dos bioflocos de alguma forma prejudicaria o processo de nitrificação.

Estas informações levaram à pergunta que serviu de base para a realização do presente trabalho, isto é, se o tamanho da partícula de bioflocos pode interferir no processo de nitrificação em sistemas BFT. A hipótese inicial do trabalho era de que o menor tamanho dos bioflocos não permitia o estabelecimento de colônias de bactérias nitrificantes (AOB e NOB).

Os resultados desse trabalho demonstram que esta hipótese não foi comprovada. Como podemos observar o primeiro experimento, tratamentos com partículas com tamanhos diferentes apresentaram concentrações de amônia e nitrito semelhantes, como nos tratamentos com bioflocos de 50, 150 e 300 μm (Figs 9A e B). Da mesma forma, no segundo experimento, realizado com camarões maiores, os tratamentos com bioflocos de 300 e 600 μm apresentaram mesmo comportamento e concentrações similares de amônia e nitrito (Figuras 16 A e B). Desta forma pode-se concluir que não existe uma relação direta entre o tamanho dos bioflocos e a nitrificação.

Ao rejeitar a hipótese inicial, criamos a hipótese alternativa de que o efeito sobre a comunidade nitrificante não seria devido ao tamanho de biofloco, mas sim devido à quantidade de material em suspensão, uma vez que a filtração de partículas empregada nos diferentes experimentos reduziu a quantidade de sólidos em suspensão e, conseqüentemente, o substrato para o grupo nitrificante, prejudicando a ação desses microrganismos dentro do sistema de cultivo.

Desta forma, a filtração empregada no presente estudo funcionou como um processo de clarificação, pois durante a filtração ocorreu a retirada de sólidos, com a retenção de partículas maiores, o que pode ter levado à uma retirada de substrato para os microrganismos nitrificantes, impossibilitando-os de realizar a oxidação dos compostos nitrogenados. Sabe-se que a clarificação pode interferir no processo de nitrificação (Ebeling et al. 2006). Entretanto, os resultados deste estudo também não confirmam a hipótese de que a nitrificação seria prejudicada pela menor quantidade de bioflocos. Por exemplo, no primeiro experimento, notamos que o tratamento com partículas até 50µm apresentou concentração de sólidos significativamente menores que os demais tratamentos (Figura 7), mas concentrações de amônia e nitrito foram similares aos tratamentos 150 e 300 µm, que tinham uma maior quantidade de sólidos em suspensão. Da mesma forma ao analisarmos os dados do segundo experimento observamos que o tratamento Sem Filtração apresentou valores mais elevados de sólidos em suspensão do que os tratamentos de 300 e 600 µm, mas os níveis de amônia se mantiveram altos na maior parte do experimento e a queda maior nas concentrações deste elemento nitrogenado ocorreu ao final do experimento, assim como nos demais tratamentos (Figuras 14 e 16A). Desta forma, não se pode afirmar que a quantidade de sólidos em suspensão seja limitante ao processo de nitrificação.

Além disso, se este fosse o caso, sistemas com estruturas para fixação do biofilme, que oferecem maior quantidade de substrato para os microrganismos nitrificantes, deveriam ser mais eficientes. Entretanto, isto não é o que indica o estudo de Ferreira et al. (2016) que mostraram que a presença de biofilme não levou à menores níveis de amônia ou nitrito em comparação com sistemas apenas com bioflocos indicando, portanto, que a maior disponibilidade de substrato não garante um processo de nitrificação mais eficiente nos sistemas.

Em comum, os dois experimentos mostraram que em todos os tratamentos onde houve a manipulação das partículas através da filtração ocorreu uma menor ação dos microrganismos nitrificantes, mas, como demonstrado anteriormente, este efeito negativo sobre estes microrganismos não se deveu a redução do tamanho dos bioflocos nem mesmo a menor concentração de partículas, sendo provável que outros fatores relacionados à manipulação das partículas estejam interferindo na nitrificação.

Vlaeminck et al. (2010), mostraram que a distribuição das microcolônias de bactérias nitrificantes em flocos ocorre de acordo com o gradiente de oxigênio, sendo este um fator determinante para o melhor crescimento e atividade destas bactérias.

Neste trabalho a técnica de FISH revelou que as bactérias em condições anaeróbicas ficam na área mais interna do floco, enquanto as bactérias que vivem em condições aeróbicas se formam na camada externa. Neste caso, as AOB se localizam na parte mais externa dos flocos, enquanto que as NOB, que são mais sensíveis a concentrações mais altas de oxigênio, se localizam na porção mais interna. Da mesma forma, Carvalho et al. (2006), investigou a distribuição das bactérias nitrificantes em flocos e grânulos e afirmam que as bactérias AOB apresentam maior crescimento na superfície (zona aeróbia), enquanto que as NOB prevalecem nas camadas mais internas (zona anóxica).

Desta forma propõe-se que outra possibilidade para explicar a baixa eficiência das bactérias nitrificantes onde os bioflocos foram manipulados seria a quebra da estrutura das partículas, com a consequente ruptura de gradientes de compostos químicos e da própria “arquitetura” da distribuição dos diferentes grupos de microrganismos nitrificantes e possível comunicação entre estes.

O terceiro experimento foi realizado, então, com o intuito de se testar a hipótese de que a queda na nitrificação seria causada principalmente pela manipulação dos bioflocos, e rompimento de sua estrutura interna. Ao realizarmos uma filtração por tempo limitado esperávamos ver uma recuperação na capacidade nitrificante no tratamento com Filtração Parcial. Isto ocorreu parcialmente, i.e., neste tratamento a filtração com malha de 50 μm causou um efeito menos prejudicial na nitrificação do que o observado no tratamento 150 μm , uma vez que os valores de amônia e nitrito foram menores no tratamento F.P do que no tratamento 150 μm (Figura 23). Por outro lado, após cessar a filtração houve uma recuperação no tamanho das partículas, mas estas não atingiram o mesmo tamanho do tratamento Sem Filtração (Figura 22). Da mesma forma, as concentrações de amônia e nitrito no tratamento F.P. não diminuíram como observado no tratamento S.F.

As maiores concentrações de nitrito medidas nos tratamentos em que houve filtração (150 μm e Filtração Parcial), pode ter resultado do fato de que as bactérias pertencentes ao grupo NOB possuem maiores limitações quanto à disponibilidade de oxigênio, pois se sabe que estas bactérias são sensíveis a níveis mais altos de oxigênio dissolvido (Figuerola e Silverstein, 1992). Sendo assim, a quebra dos bioflocos exporia as NOB à concentrações mais altas de oxigênio, limitando a absorção de nitrito e produção de nitrato e estas só retornariam às suas atividades normais após a re-estruturação dos bioflocos e estabelecimento de novos gradientes de oxigênio, amônia e nitrito no interior dos mesmos.

Com estas observações pode-se concluir que a ruptura da estrutura dos bioflocos pode causar sérios problemas ao processo de nitrificação. Neste estudo, o rompimento da composição dos bioflocos ocorreu devido ao processo de filtração. Entretanto, é bastante provável que altos níveis de turbulência da água possam também causar rompimento das partículas e gerar diminuição da nitrificação em sistemas BFT. Sabe-se que a turbulência pode também influenciar o processo de nitrificação devido a transferência de oxigênio dissolvido e de nutrientes até os microrganismos (Rusten et al. 2006) mas nossos resultados indicam que o rompimento da estrutura física e química dos bioflocos deve ter ocasionado maiores oscilações de amônia e nitrito, devido provavelmente ao rompimento da arquitetura e quebra de gradientes de oxigênio e compostos nitrogenados.

As observações da comunidade de microrganismos no terceiro experimento reforçam esta hipótese já que observamos ausência de microcolônias, provavelmente de AOB, AOA e NOB nos tratamentos que sofreram filtração (F.P. e 150 µm).

Estudos relacionados ao tamanho de biofloco e nitrificação são limitados, principalmente em sistema BFT, por isso se torna relevante avaliar o comportamento desses microrganismos em ambientes de cultivo, bem como tentar compreender de que forma estes microrganismos estão presentes, e como se dá a eficiência na atividade quando o meio é manipulado. A estrutura dos bioflocos pode ser favorável ou não ao desenvolvimento de determinados grupos de bactérias e arqueias e a eficácia no processo de nitrificação pode estar diretamente relacionada às condições ideais para o estabelecimento de microcolônias. O estudo de Vlaeminck et al. (2010) mostra que nos flocos as colônias de bactérias nitrificantes exercem suas atividades em zonas aeróbias, deixando claro que nitrificação pode ser inibida em zonas limitantes de oxigênio. O mesmo estudo reporta que atividade e abundância de bactérias AOB aeróbias foram menores com o aumento do tamanho dos agregados. No entanto, o tamanho dos agregados microbianos interfere diretamente no desempenho, mas até agora se sabe pouco sobre o assunto.

A manutenção dos parâmetros de qualidade da água em níveis adequados é necessária para um bom crescimento dos camarões cultivados. Em nosso estudo a faixa de salinidade foi mantida entre 28 e 32. Decamp et al. (2003) registra que a maior produtividade em cultivo de *L. vannamei* foi adquirida em salinidade 36. A temperatura é um parâmetro de grande relevância, pois interfere diretamente no crescimento dos camarões. No presente estudo, a temperatura mínima foi 23,13 °C no experimento 2

durante os últimos dias devido uma frente fria. Wyban *et al.*, (1995) verificaram que abaixo de 23 °C, a temperatura refletiu no crescimento de *L. vannamei*, devido à redução no consumo alimentar. Nos experimentos 1 e 3 variaram entre 26 e 27, estando dentro da faixa de tolerância. Os camarões da espécie *L. vannamei* toleram uma variação de temperatura entre 15 e 35 ° C, sendo a faixa ideal de 28 a 32 °C (Van Wyk e Scarpa, 1999).

Segundo Van Wyk e Scarpa (1999), as concentrações ideais de oxigênio dissolvido são aquelas superiores a 5,0 mg/L. Enquanto Boyd e Clay (2002) afirmam que concentrações acima de 4 mg L⁻¹ é suficiente. Os valores registrados nos três experimentos estavam dentro das concentrações de tolerância para a espécie.

De acordo com Wasielesky et al. (2006), no cultivo de camarão em sistema BFT há uma tendência de redução do pH ao longo do cultivo. Furtado et al. (2011), analisando o efeito da alcalinidade em sistema de bioflocos, detectaram que pH abaixo de 7 foi responsável pela redução no crescimento de *L. vannamei*. No presente estudo, o pH se manteve dentro da faixa de tolerância (7,0 - 8,3) da espécie reportada por Van Wyk e Scarpa (1999). Em sistemas com pouca troca de água, a alcalinidade total (CaCO₃) deve estar entre 100-150 mg L⁻¹, (Ebeling et al. 2006). No entanto Chen et al. (2006) indicam alcalinidade acima de 200 mg CaCO₃ L⁻¹. No presente estudo, os níveis de alcalinidade mantiveram-se entre 127 e 208 mg L⁻¹, o que está dentro da faixa recomendada para a espécie. O maior consumo de alcalinidade e pH nos três experimentos ocorreu no tratamento controle – S.F., pois este foi o tratamento que apresentou o melhor desempenho na nitrificação, de acordo com Furtado et al. (2011), em sistemas de bioflocos a tendência natural é que ocorra a diminuição do material carbonático ao longo do cultivo, devido à que reduzem o pH e ações dos microrganismos nitrificantes que influencia à redução de alcalinidade na forma de carbonatos e bicarbonatos.

Em sistema BFT, devido a troca de água ser mínima há uma tendência de acúmulo de Sólidos Suspensos Totais. Segundo Gaona et al. (2011) as concentrações de SST em até 500 mg/L⁻¹ são indicadas para o cultivo superintensivo de *L. vannamei*, refletindo de modo positivo na produtividade e estabilidade do sistema. Nos três experimentos os tratamentos com filtração manteve a concentração de sólidos abaixo do indicado pelos autores, considerado ótimo para a espécie, no entanto nos tratamentos sem filtração dos experimentos 2 e 3 os SST atingiram 1006 e 856 mg/L⁻¹ respectivamente. A alta concentração de sólidos no experimento 2 pode ter ocasionado

na taxa de sobrevivência dos camarões cultivados, enquanto que no experimento 3 essa concentração elevada parece não ter obtido qualquer efeito negativo.

O acúmulo de amônia em cultivos de camarões, afeta a qualidade da água, exige maior demanda por oxigênio e ainda pode ser responsável pela redução do crescimento nos camarões (Lin e Chen, 2001). Picos desse composto nitrogenado nos experimentos 1 e 2 atingiram a 4 e 4,5 mg L⁻¹ respectivamente, valor acima do nível de segurança determinados por Lin e Chen (2001). No experimento 3 a amônia se manteve abaixo da faixa de risco para a espécie cultivada, não chegando a 1 mg/L⁻¹. Já os resultados de nitrito obtidos nos experimentos 1 e 2 encontram-se dentro da faixa recomendada por Lin e Chen (2003). Enquanto que no experimento 3 a concentração máxima (27mg/L⁻¹) foi superior ao proposto pelos autores, que afirmam os níveis aceitáveis não devem ultrapassar 25,7 mg/L para o cultivo dos juvenis de *L. vannamei*. O nitrato, ao contrário da amônia e do nitrito, é pouco tóxico aos camarões (Van Rijn et al. 2006). De acordo com Kuhn et. al (2010), concentrações inferiores a 80 mg L⁻¹ de nitrato não prejudicam a sobrevivência, da espécie *L. vannamei*. As concentrações de nitrato nesse estudo estão dentro da faixa de segurança para os camarões.

As diferenças zootécnicas observadas para os camarões nos diferentes experimentos certamente devem ter se originado do efeito tóxico dos compostos nitrogenados presentes em maior concentração nos tratamentos onde houve filtração de partículas. Entretanto, é possível também que estas diferenças decorram da menor quantidade de bioflocos nestes tratamentos, que pode ter resultado em uma menor disponibilidade alimentar para os camarões.

Wasielesky et al. (2006) verificaram que o peso final e ganho de peso dos organismos cultivados em meio aos flocos microbianos aumenta devido aos benefícios nutricionais gerados pela alta produtividade natural presente nestes sistemas. Nos três experimentos, os camarões do tratamento controle (sem filtração) apresentaram peso final e ganho de peso mais elevado que os demais tratamentos, ou seja, é provável que o menor ganho de peso esteja relacionado com a menor disponibilidade de bioflocos, já que a filtração de partículas retirava os flocos que servem de suplemento alimentar para os camarões.

Wasielesky et al. 2006 e Kuhn et al. 2008, obtiveram elevados percentuais de sobrevivência com juvenis do camarão-branco em sistema BFT. As sobrevivências obtidas nesse estudo foram superiores a 90%, exceto no tratamento S.F do experimento

2, onde a taxa de sobrevivência foi de 79,99% e que ainda é considerada adequada para o cultivo de camarão em sistema de bioflocos.

Krummenauer (2008) e Silva et al. (2013) verificaram taxas de conversão alimentar de 1,27 e 1,66 respectivamente. A conversão alimentar aparente encontrada nos tratamentos dos três experimentos onde houve filtração se mostrou inferior aos padrões desse sistema, onde a média em outros estudos varia entre 1,2 e 1,6. Nos tratamentos com filtração retirava-se parte da proteína natural e outros suplementos presente nos flocos microbianos, o que refletiu diretamente no baixo desempenho dos camarões.

5. CONCLUSÃO

Através dos resultados desse estudo conclui-se que quando houve manipulação das partículas através da filtração ocorreu uma menor ação dos grupos de microrganismos nitrificantes, mas, este efeito negativo sobre esses microrganismos não foi decorrente da redução de tamanho dos bioflocos e sim da ruptura da arquitetura dos bioflocos, ou seja, ficou claro que a estrutura dos bioflocos pode ser favorável ou não ao desenvolvimento de alguns grupos de microrganismos, e no caso do grupo nitrificante, torna-se necessárias condições ideais para o estabelecimento de microcolônias para garantir a eficácia no processo de nitrificação.

A filtração das partículas ocasionou à uma menor ação dos grupos de microrganismos nitrificantes, sendo assim não recomenda-se qualquer tipo de filtração.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aoac (1999) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington 2: (35) 1-30

Apha Awwa Wef (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, DC

Avnimelech Y (1999) Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176:227-235

Avnimelech Y (2009) *Biofloc Technology – A Practical Guide Book* The World. Aquaculture Society Baton Rouge USA 182 p

Boyd CE, Clay JW (2002) Evaluation of Belize Aquaculture, Ltd: A Superintensive Shrimp Aquaculture System. Report prepared under the World Bank, Naca, wwf and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium 17 p

Boyd CE (2007) Nitrification important process in aquaculture. *Global Aquaculture Advocate* 5: 64–66

Carvalho G, Meyer RL, Yuan Z, Keller J (2006) Differential distribution of ammonia- and nitrite-oxidising bacteria in flocs and granules from a nitrifying/denitrifying sequencing batch reactor. *Enzyme and microbial technology* 39 (7):1392-1398

Chen S, Ling J, Blancheton JP (2006) Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacult Eng* 34:179–197

Decamp OE, Cody J, Conquest L, Delanoy G, Tacon AGJ (2003) Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone) within experimental zero-water Exchange culture systems. *Aquacult Res* 34: 345-355

Delatolla RN, Tufenkji Y, Comeau D, Lamarre A, Gadbois DB (2009) In situ characterization of nitrifying biofilm: Minimizing biomass loss and preserving perspective. *Water research* 43(6): 1775-1787

De Schryver PD, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W (2008) The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture *Aquaculture* 277:125-137

Ebeling JM, Timmons MB, Bisogni JJ (2006) Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic and heterotrophic removal of ammonia – nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257: 346-358

Ferreira LM, Lara G, Wasielesky W Jr, Abreu PC (2016) Biofilm versus biofloc: Are artificial substrates for biofilm production necessary in the BFT system? *Aquaculture International* 24(4): 921-930

Figuerola L, Silverstein J (1992) The effect of particulate organic matter on biofilm nitrification. *Water Environment Research* 64:728

- Frías-Espericueta MG, Paéz-Osuna F (2001) Toxicidad de los compuestos del nitrógeno em camarones, In: Paéz-Osuna, F. (ed.). Camaronicultura y Medio Ambiente. El Colegio de Sonora, Mazatlán, Sinaloa, México. 253-276
- Furtado PS, Poersch LH, Wasielesky W Jr. (2011) Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bioflocs technology (BFT) systems. *Aquaculture* 321:130-135
- Gaona CAP, Poersch LH, Krummenauer D, Foes GK, Wasielesky, W Jr. (2011) The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. *International Journal of Recirculating Aquaculture* 11: 54-73
- Hargreaves JA, (2006) Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquacult Eng* 34: 344–363
- Hobbie JE, Daley RJ, Jaspers S. (1977) Use of Nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl Environ Microbiol* 33: 225- 228
- Jory DE, Cabrerias RT, Durwood MD, Fegan D, Lee GP, Lawrence AL, Jackson JC, McIntosh PR, Castañeda AJ, (2001) A global review of shrimp feed management: status and perspectives. *Aquaculture the World* Aquaculture Society, Baton Rouge, LA USA
- Konneke M, Bernhard AE, De La Torre JR, (2005) Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature* 437: 543–546
- Krummenauer D (2008) Estratégias para o cultivo de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) no extremo sul do Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Rio Grande. Rio Grande do Sul, Brasil 60p
- Kuhn DD, Boardman GD, Craig SR, Flick GJ, Mclean E (2008) Use of Microbial Flocs Generated from Tilapia Effluent as a Nutritional supplement for Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Recirculating Aquaculture Systems. *J. World Aquacult Soc* 39: 72-82
- Kuhn DD, Smith SA, Boardman GD, Angier MW, Marsh LFJ, George J (2010) Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture* 10:10-16
- Koops H, Pommerening RA (2001) Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiology Ecology* 37: 1-9
- Lara G, Krummenauer D, Abreu PC, Poersch LH, Wasielesky W Jr (2017) The use of different aerators on *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system: effects on water quality, shrimp growth and biofloc composition. *Aquaculture* 25:147–162
- Li EL, Chen Z, Zeng X, Chen NYU, Q Lai, Qin JG (2007) Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile White shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture* 265: 385-390

- Lin Y, Chen J (2001) Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 259: 109-119
- Lin YC, Chen JC (2003) Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* 224: 193-201
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J (2004) *Microbiologia de Brock*. 10 ed. São Paulo, Prentice Hall
- Samocha TM, Patnaik S, Speed M, Ali A, Burger JM, Almeida RV, Ayub Z, Harisanto M, Horowitz A, Brock DL (2007) Use of molasses as source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering* 36:184-191
- Silva KR, Wasielesky W Jr, Abreu P C (2013) Nitrogen and phosphorus dynamics in the biofloc production of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 44(1): 30-41
- Strickland JDH, Parsons TR (1972) *A practical handbook of seawater analysis*. Ottawa: Fishery Research Board Canada, 310p
- Unesco (1983) *Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and guides*. 12 Intergovernmental Oceanographic Commission. Paris, France
- Van Wyk P, Scarpa J, (1999) *Water Quality and Management*. In: Van Wyk, P., et al. (Eds.), *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, 128–138
- Van Rijn J, Tal Y, Schreier HJ (2006) Denitrification in recirculating systems: Theory and applications. *Aquac Eng* 34 (3): 364-376
- Vlaeminck SE, Terada A, Smets BF, De Clippeleir H, Schaubroeck T, Bolca S, Demeestere L, Mast J, Boon N, Carballa M, Verstraete W (2010) Aggregate size and architecture determine microbial activity balance for one-stage partial nitrification and anammox. *Appl Environ Microbiol* 76(3):900–909
- Ward BB, (2013) *Nitrification*. Princeton University, Princeton, NJ, USA
- Wasielesky W Jr, Atwood HI, Stokes A, Browdy CL (2006) Effect of natural production in brown water super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258:396–403
- Wijeyekoon S, Mino T, Satoh H, Matsuo T (2004) Effects of substrate loading rate on biofilm structure. *Water Research* 38:2479-2488
- Wyban J, Walsh WA, Godin DM (1995) Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 138: 267-279

Zar JH (2010) Biostatistical analysis. Upper Saddle River: Prentice Hall. 944p

PERSPECTIVAS DE FUTUROS ESTUDOS

O tema sobre nitrificação e bioflocos é de grande relevância para o cultivo de camarões, dessa forma há necessidade de pesquisas voltadas para essa área, assim através dos resultados deste estudo seria interessante avaliar as conseqüências do rompimento da arquitetura do floco, bem como a interação dos microrganismos e atividades funcionais quando passam pelo processo de desagregação. Isto poderia ser feito em experimentos com diferentes níveis de turbulência.

Outra sugestão seria analisar o efeito da redução do tamanho da partícula, procurando manter concentrações constantes de sólidos e verificar se há modificação na comunidade microbiana.